

海藻から抽出した色素の吸光度について

班員 塩谷 大和、新田 福人、濱名 りかこ、松本 岳生
担当教諭 井上 翔吾

キーワード：吸光度 光合成色素 吸光スペクトル

We conducted the research on the properties of photosynthetic pigments in seaweeds. We identified coloring matters seaweeds contain. Moreover, we measured waveform of absorption spectrum of seaweeds in ordinary temperature and low temperature. Then, we found that seaweeds in low temperature absorbed light more than those in ordinary temperature, and we identified the photosynthetic pigments concerned with increasing of the amount of absorbed light.

1 はじめに

海藻は特有の色素を持つことが知られている。能登地域に分布する複数種の海藻に含有する色素を調べた。また、光化学系 II に結合しているクロロフィルは液体窒素の低温状況下で蛍光量が増加することが報告されている（彦坂幸毅、1999.09.14）。そこで、蛍光量に大きく関係する吸光度に着目し、海藻の持つ色素を低温にさらした場合の吸光度の変化について実験した。

2 材料

乾燥した市販の緑藻（アオサ *Ulva sp.*）、紅藻（イワノリ *Porphyra pseudolinearis*）、褐藻（カジメ *Ecklonia cava*、アカモク *Sargassum horneri*、ワカメ *Undaria pinnatifida*）を用いて、以下の実験を行った。

3 実験 I

目的

海藻の種類ごとに含有する色素を抽出し、同定する。

材料

試料（前述の海藻）、乳鉢、乳棒、ピペット、試験管、コルク、TLCプレート、抽出液（アセトン）、展開液（石油エーテル：アセトン＝3：1）

方法：薄層クロマトグラフィー法による色素の同定

- ① 試料を適量、粉碎器で細かくください。
- ② ①の試料を乳鉢に入れ、乳棒ですりつぶした。
- ③ ピペットを用いて抽出液を適量滴下し、さらにすりつぶして色素を抽出した。
- ④ 空の試験管に約 5ml 展開液を入れ、コルクで蓋をし、約 10 分間蒸発させ、試験管内に展開液を充満させた。
- ⑤ TLCプレートの下端から 2cm の箇所（Aとする）とAから 12cm の箇所（Bとする）にそれぞれ線を引き、A線の中央に抽出した色素を付着させた。
- ⑥ TLCプレートを、A線側を下にして④の試験管に入れ、コルクで蓋をして色素を展開した。展開液の前線がB線に至った時点で展開を終了させ、試験管からTLCプレートを取り出した。
- ⑦ 各色素の移動距離を測定し、色素の移動率であるRf値を算出した。
Rf 値＝各色素が移動した距離 f / 色素を滴下した地点から展開液の前線までの距離 R（図 2）
- ⑧ Rf 値と色素の色を先行研究と比較し、それぞれの色素の種類を同定した。

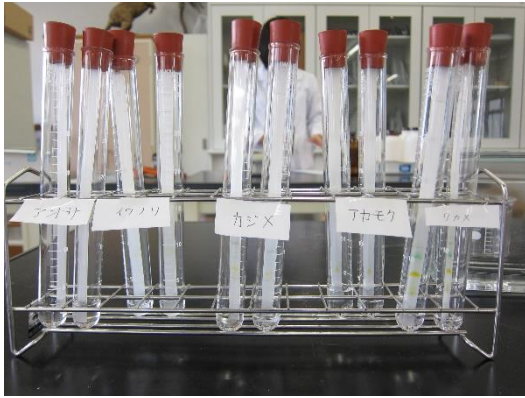


図1 クロマトグラフィーの様子

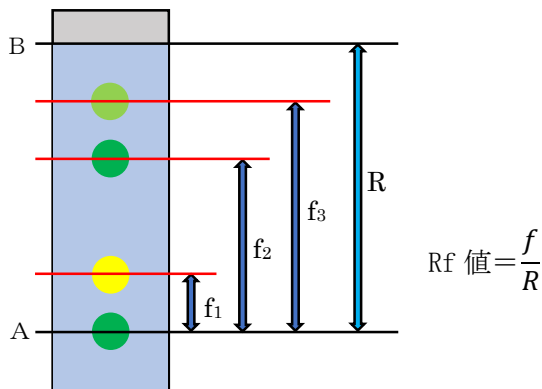


図2 Rf 値の算出方法

結果

海藻が持つ色素は表1のように推定できた。

表1 各海藻に含有する色素とRf 値

色素名	アオサ	イワノリ	カジメ	アカモク	ワカメ
クロロフィルa	0.200	0.400	0.366	0.376	0.408
クロロフィルc	-	-	-	-	0
フコキサンチン	-	-	0.192	0.293	0.233
β-カロテン	-	0.375	-	9.992	-
フェオフィチンa	-	-	0.517	0.564	0.525
フィコエリスリン	-	0.008	-	-	-

すべての海藻にクロロフィルaが共通して含まれていた。また、褐藻は緑藻、紅藻には含まれないフコキサンチンとフェオフィチンaを共通して持つことが分かった。さらに、紅藻であるイワノリは、他種が持たないフィコエリスリンを持っていた。

4 実験Ⅱ

目的

液体窒素による低温状況下では色素の蛍光量が増加する(彦坂幸毅, 1999. 09. 14)。蛍光に関係する吸光に着目して、低温状況は、吸光量に影響

を与えるかどうかを調べる。

材料

試料(前述の海藻)、スクリー管、70%エタノール溶液、ワイヤレス分光センサ(島津理化)



図3 ワイヤレス分光センサ

方法

- ① 試料1.5gを70%のエタノール溶液に40分間浸して色素を抽出した。
- ② 試料を取り除いた色素の溶液をスクリー管に入れ、溶液を直射日光が当たらない条件で2時間常温(20℃)または、低温(12℃)で保存した。
- ③ ワイヤレス分光センサを用いて保存温度の異なる抽出液の吸光スペクトルを計測した。温度間で吸光スペクトルの波形の違いに着目して波長と吸光量を比較した。

結果

各海藻の吸光スペクトルは図4～8のように測定できた。

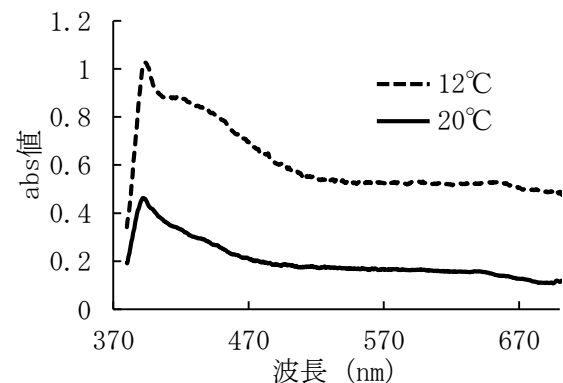


図4 12℃と、20℃で保存したアオサの抽出液の吸光スペクトル

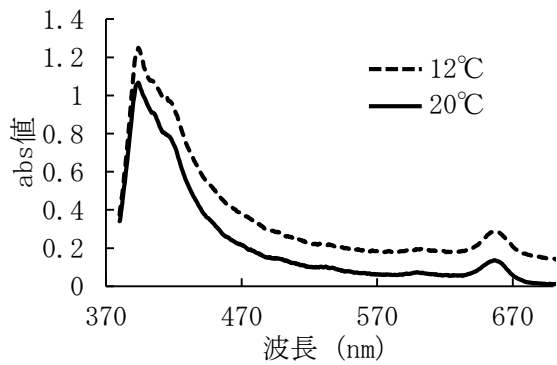


図5 12°Cと、20°Cで保存した
イワノリの抽出液の吸光スペクトル

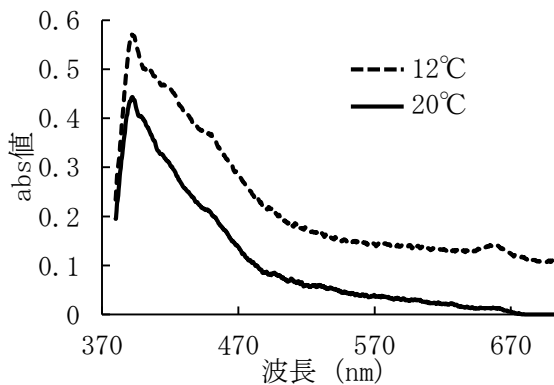


図6 12°Cと、20°Cで保存した
カジメの抽出液の吸光スペクトル

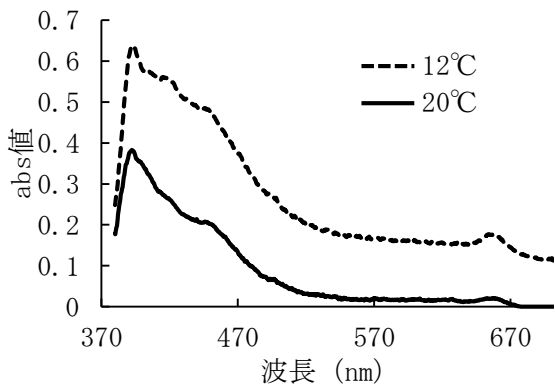


図7 12°Cと、20°Cで保存した
アカモクの抽出液の吸光スペクトル

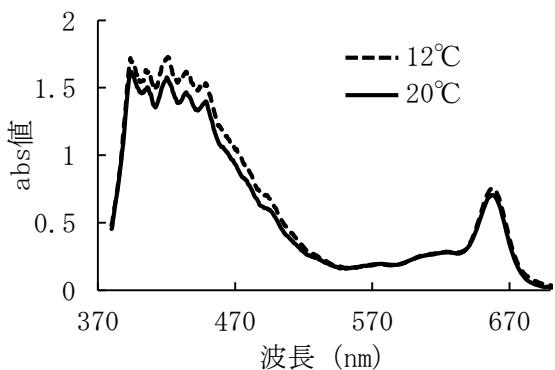


図8 12°Cと、20°Cで保存した
ワカメの抽出液の吸光スペクトル

すべての海藻において、12°Cで保存した場合の抽出液の吸光度が20°Cで保存したものより上回っていた。特に、12°C保存の吸光度が大きく上回ったものを表2に示す。どの海藻でも、400~500nmと650~670nmの範囲で、差が大きかった。

液体窒素を用いずとも、12°C程度の低温でも吸光量の変化を確認できた。

表2 海藻ごとの特に吸光度の差が大きかった波長域

海藻	特に吸光度の差が大きかった波長域	
アオサ	400~520nm	650~700nm
イワノリ	400~500nm	660~670nm
カジメ	400~520nm	650~670nm
アカモク	400~500nm	650~670nm
ワカメ	400~450nm	650~670nm

5 考察

実験 I では海藻がもつ光合成色素の種類を、実験 II では常温下と低温下での吸光量の差が大きかった波長域を特定できた。また、それぞれの光合成色素の吸光スペクトルはわかっている（日本光合成学会, 2015. 04）ので、冷蔵による吸光度の増加に関わる色素を特定した。

調べた海藻すべてにクロロフィルaが含まれていた。また、すべての海藻において冷蔵後の吸光度が400~450nmと650~670nmで大きく変化していた。これはクロロフィルaの吸光域（図9）と一致するため、この吸光量の増加にはクロロフィルaが関係していると考えられる。つまり、クロロフィルaは冷蔵により、吸光量が増加すると予想される。

カジメ、アカモク、ワカメはフェオフィチンaを持つが、フェオフィチンaの吸光域（図10）である340~420nmでの吸光度の変化は見られなかった。よって、フェオフィチンaは冷蔵により吸光量が変化しないと考えられる。

同様に、イワノリで、フィコエリスリンの吸光域（図11）である500~590nmで吸光度の変化はみられなかったことから、フィコエリスリンは冷蔵によって吸光量が大きく変化しないと

考えられる。

クロロフィルc、フコキサンチン、 β -カロテンについてみるとその吸光域が、380~510nmで重複する(図12)。今回の結果では、380~510nmでも吸光度が上昇したが、これら3つの光合成色素のどれがこの波長域での吸光量の変化に関係しているかを識別できなかった。したがって温度との関係を知ることができなかった。

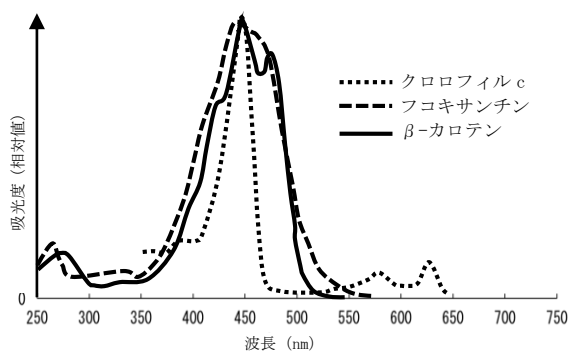


図12 クロロフィルc、フコキサンチン、 β -カロテンの吸光スペクトル

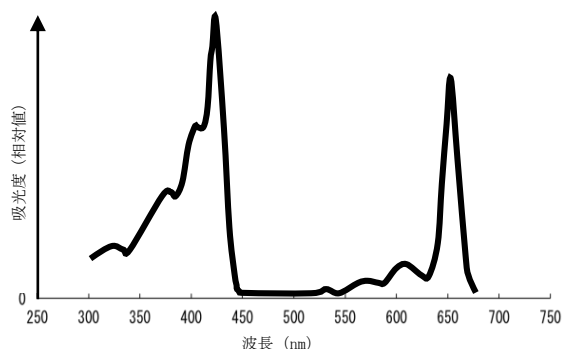


図9 クロロフィルaの吸光スペクトル

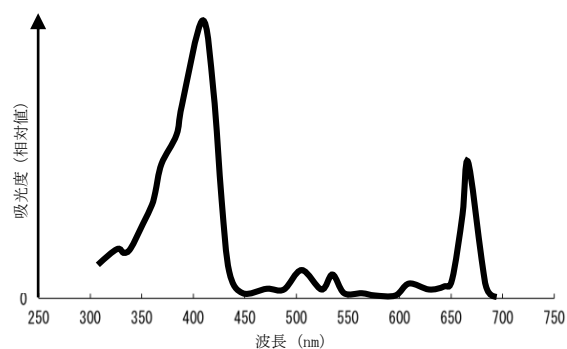


図10 フェオフィチンaの吸光スペクトル

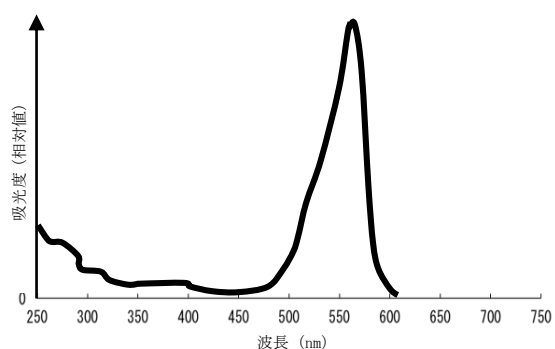


図11 フィコエリスリンの吸光スペクトル

冷蔵後に吸光度が上昇した理由を考えると、実験に用いた海藻はどれも冬から春先に成長期を迎える(株式会社ヤマシタ 海藻図鑑-奥能登・日本海の高藻) 能登地域でのこの時期の海水温は9~14°Cである(第九管区海上保安部, 2020)。よってこれらの海藻は、海水温が低い時期に成長するために、光合成色素は低温でより吸光量を増加させているのかもしれない。

6 今後の課題

吸光度の増加の原因についてクロロフィル凝集などを考慮して化学的観点から考察したい。また、今回特定できなかったクロロフィルc、フコキサンチン、 β -カロテンの吸光度の変化についても調べたい。

7 参考文献

- (1) 彦坂幸毅. 光合成研究の方法論.
<http://hostgk3.biology.tohoku.ac.jp/Hikosaka/fluorescence.html> (参照 2020/11/14)
- (2) 日本光合成学会, 光合成事典(クロロフィル類の吸光スペクトル)
<https://photosyn.jp/pwiki/> (参照 2020-11-04)