水稻幼植物の葉身の色素分離法について

朴 慶 培・佐 藤 庚
(東北大学農学部)

A Note on the Separation Method of Pigments from Leaf Blade in Rice Seedlings

Kyeong Bae PARK and Kanoe SATO

(Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai 980)

(昭和 55 年 10 月 11 日受理)

水稻葉の変色過程を解明するためには、葉身の構成色素を安定的に分離することが必要である⁸⁾。著者らは薄層クロマト用プレートを使い、簡便、迅速かつ安定的に分離する方法を検討した結果、展開溶媒を選択すれば期待する分離が可能であることを知った。

実験材料および方法

昼/夜温 25°/20°C のキャビネット内において、型の違う水稻 (*japonica* 型 : ササニシキ, *indica* 型 : IR 24, *japonica* × *indica* : Milyang No. 23) を自然光下で 15 日間生育させ、苗齢がササニシキで 3.5, IR 24 と Milyang No. 23 で 3.1 に達した苗を用いた。生葉身 0.5 g を細切し、80% アセトン溶液 100 ml を加え、暗室の低温 (4°C) 下で 1 日抽出した。この抽出液 100 ml から 20 ml を分液ロートに移し、これにエチルエーテルを同量加え、40 ml の水を 5 回加えてアセトン可溶と水溶性の色素を除いた。エチルエーテル溶液部分に Na₂ SO₄ 2 g を加え、30 分間放置したのち 50 ml 吸収びんに移し、Handy aspirator (ヤマト製) でエチルエーテルを蒸発させた。石油エーテル 1 ml を加えて溶かし、50 μ l でスポットした。展開溶媒として A 溶媒 : tert-ブタノール : n-ペンタン : アセトン = 0.5 : 9 : 0.5 (v/v/v)⁴⁾, B 溶媒 : tert-ブタノール : n-ペンタン = 1 : 9 (v/v), C 溶媒 : 石油エーテル : アセトン = 4 : 1 (v/v)²⁾ を使い、室温、暗条件で、市販のワコーゲルプレート (5 × 10 cm) で分離した。色素の種類は薄層クロマトグラフィー上の Rf 値、色調および 340~740 nm における吸収極大値の 3 つの特性から同定した。

実験結果および考察

全色素の分離は A 溶媒 (第 1 図 A) が B (第 1 図 B)

と C (第 1 図 C) 溶媒より良好であった。葉緑素類は A 溶媒でクロロフィル a', a, b, b; B 溶媒でクロロフィル a, b; C 溶媒でクロロフィル a, a, b が分離された。カロチノイド類では、カロチンは溶媒が異なることに関係なく良く分離されたが、ルテインは A 溶媒では良く分離され、クロロフィル b との Rf 値 (×100) 差が 13 であったが、B および C 溶媒ではそれぞれ 7, 4 で、クロロフィル b と重なり、分離が不良であった。キサントンは A 溶媒ではビオラキサントンの分離は良好であったが、ネオキサントンの分離は不良であった。B 溶媒ではビオラキサントン、ネオキサントンとも分離が良好であったが、C 溶媒では両者とも不良であった。フェオフィチンは A 溶媒ではクロロフィル a' と重なって、分離が不良であったが、B および C 溶媒では良好な分離が得られた。SHIRAKI⁴⁾ はホウレンソウの葉で葉緑素類の分離は A 溶媒で良好であると報告しているが、本研究もこれと一致した。本研究ではクロロフィル b とルテインとの分離は A 溶媒、キサントンの分離は B 溶媒、フェオフィチンとクロロフィル a' の分離は C 溶媒によって良好であった。SHIRAKI⁴⁾ は A および B 溶媒ではルテインの移動性はクロロフィル a および b より小さいと報告し、KIM と KWON²⁾ は C 溶媒ではクロロフィル a および b より大きいと報告している。分離された色素の種類数は展開溶媒によって変動したが、品種間では差がなかった。以上の結果から水稻葉身における色素の分離にあたっては、研究目的に応じて展開溶媒を選択する必要がある。

謝辞 : 本研究について助言を頂いた本学農学部植物栄養、肥料学教室大平幸次教授、小島邦彦助教授に感謝いたします。

Fig. 1. Thin-layer chromatogram of pigments from rice leaves in several solvent systems. A: tert-butanol: n-pentane: acetone=0.5 : 9 : 0.5; B: tert-butanol: n-pentane=1 : 9; C: petroleum ether: acetone=4 : 1 S: Sasanishiki, M: Milyang No. 23, I: IR 24. G: grey, YO: yellowish orange, Y: yellow, YG: yellowish green, BG: bluish green, ○: trace, X: position of spot

引用文献

1. 林 孝三 1980. 植物色素. 養賢堂, 東京. 151—267.
2. KIM, J.H. and Y.W. KWON 1977. Seoul Natl. Univ. Coll of Agri. Bull. **2**: 15—28.
3. 清水 碩 1971. 生物科学 **23**: 31—42.
4. SHIRAKI, M., M. YOSHIURA and K. IRIYAMA 1978. Chemistry Letters **73**: 103—104.