

“叶绿体中色素的提取和分离”实验方法优化初探

郭青枝 杨小峰 郭春燕

(忻州师范学院, 山西 忻州 034300)

摘要: “叶绿体中色素的提取和分离”实验不仅是高中的生物课中非常重要的实验,同时也是中学生物教法实验课中学习的内容。在实验过程中由于选择的实验材料不同、实验材料的季节不同、选择的滤纸材质不同、选择的滤纸条角度不同以及画线方法不同等,通过纸层析法分离,最后得到的显色实验效果也会有明显差异。本文根据叶绿体色素的提取和分离原理,从实验实际出发,选择忻州当地市场上三种常见的绿色蔬菜的叶片作为实验材料进行对比实验。实验结果表明:只要将定性滤纸条的一端剪去的两角角度大小为 70° 且徒手来进行画线,选择春季新鲜的菠菜的叶片作为实验材料,选择无水乙醇作为提取液,不但实验效果明显,而且能减轻对实验者的身体健康伤害及实验者害怕中毒的心理压力,安全性更高,可操作性更强,可为中学生物教法实验提供有效的理论和实践参考。

关键词: 绿叶蔬菜;色素;纸层析法;滤纸条角度

教科书中虽然已经给了我们做实验的完备方案,但是方法中的常规方法和概括范围不免有些不够具体,而且得出的实验效果并不是最优的结果。为了找到一种使实验效果最好且安全性高、操作性强、更适合学生操作的方案,本文做了如下的一些实验。首先,我选择了当地的三种实验材料(菠菜、油菜、芹菜),并在冬季和春季两个不同的季节对他们进行研究,选择出我们忻州当地容易购买到的三种蔬菜中使实验效果最好的材料和季节。其次,考虑到安全角度,本文把课本上的有毒的丙酮提取液换成无水乙醇来提取色素,秉着无毒且实验效果更优的原则探究更适合学生使用的提取液。教科书中的实验中是规定了滤纸条在层析前要在滤纸条的一段剪去两端,却没有明确给出剪去多大的角度会使实验效果做好,所以本文在实验中选取了 $65^\circ \sim 85^\circ$ 之间五个不同的角度梯度来探究得到最优的实验角度。同时,本文又选择了两种不同的滤纸(普通滤纸、定性滤纸)来进行层析,观察哪种滤纸的实验效果更好,确定一种更合适的滤纸材料。最后,由于画线必须“齐”“直”,徒手画很难精准,所以来探究一下不同的画线方法,以找到最优的画线方法供学生以后做实验来采用。

叶绿体中的色素是植物吸收太阳光能进行光合作用的重要物质,其主要由叶绿素a、叶绿素b、叶黄素和胡萝卜素四种色素组成,在高中《生物》教科书中常选择丙酮作为提取液来提取色素,然后再利用纸层析法对色素加以分离,就能得到四

条色素带。

一、材料与方法

(一) 材料与试剂

材料:新鲜的菠菜、油菜、芹菜的叶片,这些绿叶蔬菜均购于忻州市卢野市场。

药品:二氧化硅、碳酸钙、无水乙醇、丙酮、石油醚(经 $60^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$ 分馏)、苯等均为分析纯。

试剂:层析液。本研究选用的层析液为:石油醚(经 $60^\circ\text{C} \sim 90^\circ\text{C}$ 分馏)、丙酮、苯(20:2:1)。

(二) 仪器

LT602E电子天平(常熟市天量仪器有限责任公司)、药勺、研钵、剪刀、量筒、胶头滴管、铁架台、漏斗、纱布、铅笔、试管架、试管、棉塞、干燥的定性滤纸、干燥的普通滤纸、直尺、量角器、100mL烧杯、毛细吸管、培养皿盖、吹风机。

(三) 实验方法

通过设置对照实验,同时控制单一变量法来进行比较分析。

首先设立A、B、C、D、E、F组对照实验:

A组春季不同的实验材料 1号试管:菠菜色素提取液

2号试管:油菜色素提取液

3号试管:芹菜色素提取液

B组冬季不同的实验材料 4号试管:菠菜色素提取液

5号试管:油菜色素提取液

6号试管:芹菜色素提取液

C组不同的滤纸条角度 65° 、 70° 、 75° 、 80° 、 85°

D组不同的滤纸 普通滤纸、定性滤纸

E组不同的提取液 丙酮、无水乙醇

F组不同的画线方法 手画、用直尺画、蘸取

(四) 实验步骤

1. 叶片选材

新鲜的绿叶(菠菜、油菜、芹菜)

2. 提取绿叶中的色素

(1) 实验若想取得成功,首先提取色素必须成功,即色素提取液应该为深绿色。为了确保能够获得深绿色的色素提取液,本文进行了如下操作:称取5g新鲜的去除了叶脉的蔬菜的叶片放入研钵中,用剪刀尽量剪碎。向研钵中再分别加入1g二氧化硅和1g碳酸钙(加入二氧化硅能够使研磨更加充分、迅速,加入碳酸钙则是为了保护色素)。充分研磨3min,至叶片磨得很碎时,再向研钵中加入3mL提取液,加完之后再迅速充分研磨,直至研钵中的液体变为深绿色。然

后再将深绿色的液体倒入漏斗中，选用三层纱布过滤。最后将得到的深绿色的滤液收集到试管中，并马上用棉塞塞住试管口备用。

3. 制备滤纸条

滤纸条的长度一般根据实验中层析时所选用的烧杯而定。本研究层析时选用 100mL 的烧杯（高约 7cm）。取经干燥处理的定性滤纸，并剪成宽 1.5cm、长 9cm 的滤纸条，并在距离需要剪角的一端 1cm 处用铅笔沿着直尺画一条细而直的横线，然后再将用铅笔画了线的一端剪去两角备用。在查阅了文献资料的基础上，C 组对照实验设计的滤纸条的一端剪去的两角角度大小由小到大依次为 65°、70°、75°、80°、85°。

4. 画滤液细线

高中《生物》教科书中单纯地采用毛细吸管吸取少量的滤液，沿铅笔线均匀地画出一条细线，利用这种方法用毛细吸管吸取滤液重复画线 3 次，每次画完之后用吹风机冷风吹干。其中采用吹风机吹能够保证滤纸条干燥，这样便不会弄破滤纸条；不用热风而用冷风吹则是为了防止高温破坏色素；重复画线是为了增加色素含量，使通过纸层析法分离后的色素带更加明显。

此次实验我将采取三种画线方法：

- ①高中课本上的徒手用毛细吸管画线。
- ②用直尺比着铅笔细线拿毛细吸管进行划线。
- ③是把滤纸沿着铅笔线将滤纸折叠成两层，然后轻轻蘸取提取液。

5. 分离叶绿体中的色素

将画好滤液细线的滤纸条（画有滤液细线的一端朝下）事先放入层析所用的 100mL 烧杯中，将滤纸条上端露出的部分沿烧杯边缘折一下，这样做是为了使滤纸条能够挂在烧杯上，然后再将滤纸条取出来。取出滤纸条后向烧杯中加入 3mL 层析液，再将滤纸条轻轻地放入到层析液中，使滤纸条能够斜靠在烧杯的内壁上。该过程中要注意滤液细线不能触碰到层析液，因为层析液会溶解色素，使色素无法分离。随后立即用培养皿盖盖住烧杯，防止层析液挥发，再直立置于阴暗处（防止层析出的色素带在光下分解）层析 4min。

6. 保存实验结果

4min 后取出滤纸条，并立即用吹风机冷风吹干，然后迅速拍照并保存实验结果。

二、结果与分析

（一）A、B 两组不同的季节进行对比

A 组：

A 组实验的单一变量为春季的三种不同的蔬菜，实验中的滤纸选择定性滤纸并把两端剪去 70°，提取液选择无水乙醇，最终用毛细吸管徒手进行画线。

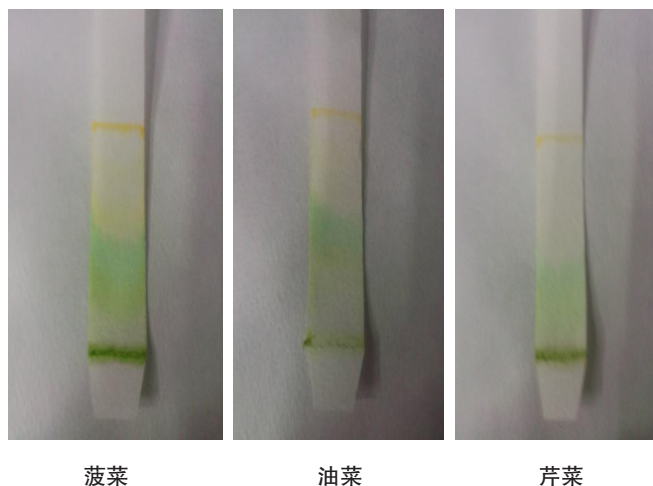


图 1：春季的三种蔬菜的色素的分离效果图

由图中我们可以看出虽为同季节的蔬菜，但它们各自的色素含量却是大不相同的。我们可以清晰的看出菠菜的色素带最为明显，其次为芹菜，相比之下油菜的色素带最不明显，由此我们可以得出菠菜的色素含量是最多的。

B 组：

B 组实验的单一变量为冬季的三种不同的蔬菜，实验中的滤纸选择两端剪去 70° 两角的定性滤纸，提取液选择无水乙醇，最终用毛细吸管徒手进行画线。

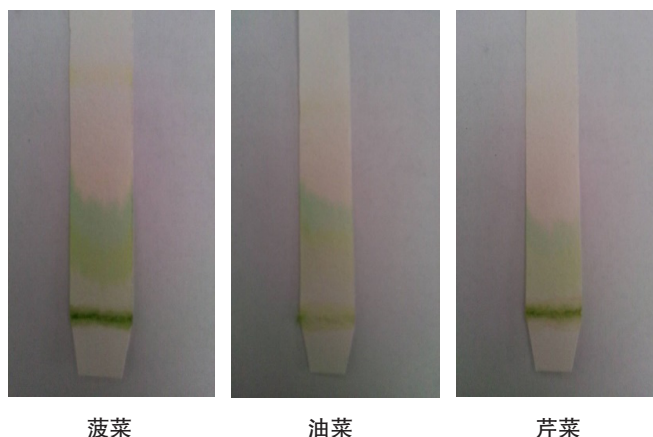


图 2：冬季的三种蔬菜的色素的分离效果图

图 2 为冬季的各种不同蔬菜色素分离的色素带图，由此图也可以看出菠菜的色素带相对来说更明显一些，再一次证实了 A 组的实验结果。

下面我们来拿 A、B 两组的实验结果做对比，首先我们可以看到冬季的蔬菜的第四条色素带非常的不明显，几乎看不到，而 A 组中春季的蔬菜提取的色素带就很清楚地看到第四条色素带。我们都知道由于不同色素在层析液中的溶解度不同。故由冬季的蔬菜中很难提取出胡萝卜素我们可以推断为，冬季蔬菜中胡萝卜素的含量较少，春季蔬菜中胡萝卜素含量就相对较多。

(二) 不同的滤纸条角度进行对比

C 组:

C 组实验的单一变量为不同的滤纸条角度, 实验中材料用

菠菜, 滤纸选择两端剪去两角的定性滤纸, 提取液选择无水乙醇, 最终用毛细吸管徒手进行画线。

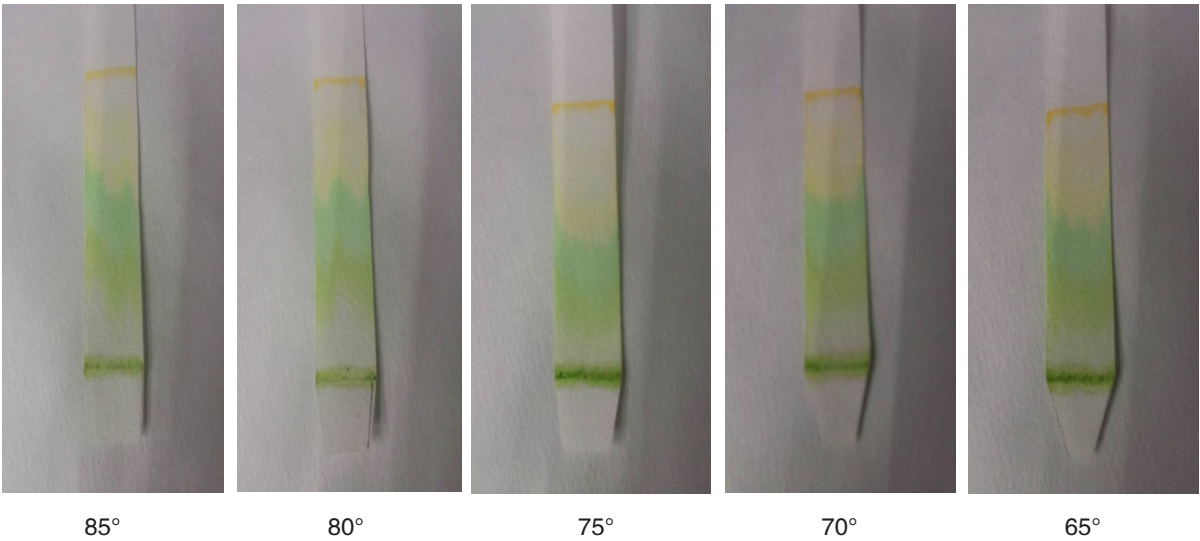


图 3: 不同角度的滤纸条的色素的分离效果图

图 3 为不同的滤纸条角度下色素带的分离结果, 其中我们看到在 65° ~85° 之间, 滤纸条色素带均较为清楚, 但其中 70° 时色素带最为清晰。

(三) 不同的滤纸进行对比

D 组:

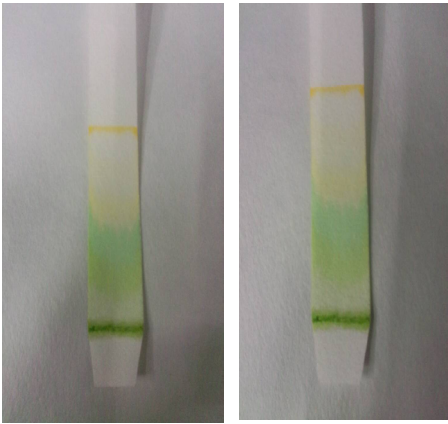
D 组实验的单一变量为不同的滤纸条, 实验中材料用冬季的菠菜, 滤纸选择两端剪去 70° 两角的滤纸, 提取液选择无水乙醇, 最终用毛细吸管徒手进行画线。

看到定性滤纸提取出的色素带颜色更深, 色素带更清晰。故选择定性滤纸实验效果更好。

(四) 不同的提取液进行对比

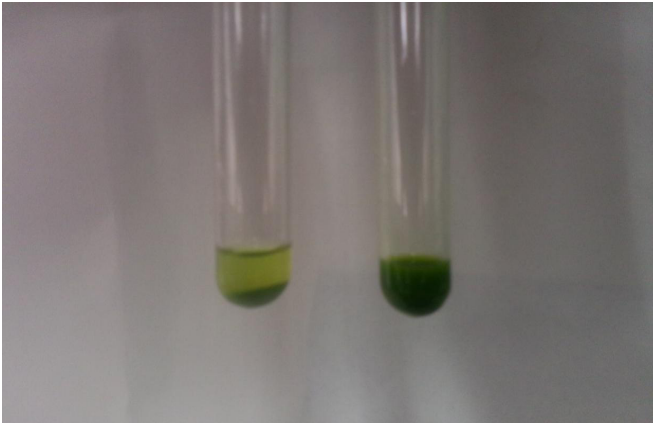
E 组:

E 组实验的单一变量为不同的提取液, 实验中材料用冬季的菠菜, 滤纸选择两端剪去 70° 两角的定性滤纸滤纸, 最终用毛细吸管徒手进行画线。



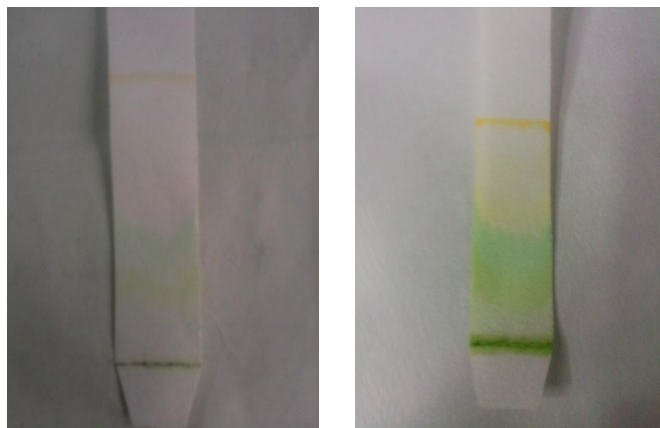
普通滤纸 定性滤纸
图 4: 不同滤纸的分离效果图

为了找到使提取的色素带更明显清晰的实验过程, 本文还采用了不同的滤纸进行分离, 实验室中有两种不同的滤纸, 分别为定性滤纸和普通滤纸, 在其他条件均一致的情况下, 我们



图左: 丙酮 图右: 无水乙醇
图 5: 不同的提取液的色素提取液

上图为不同的提取液提取出的色素提取液, 实验材料我们均选择的春季的菠菜, 且其他条件保持一致。我们从图中就可以清晰地看出左图中的丙酮提取出的色素提取液浓度明显低于右图中的无水乙醇提取出的色素提取液



丙酮

无水乙醇

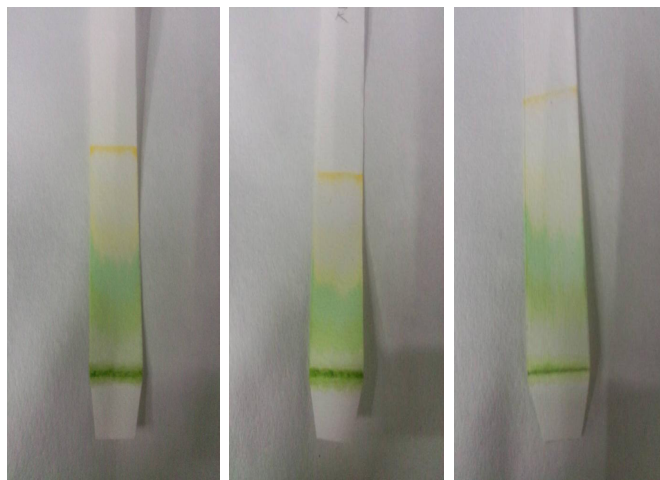
图 6: 不同的提取液的色素分离实验效果图

上图为不同的提取液的实验效果图,从图中更证实了上面我们的猜想,所以我们用无水乙醇来作为提取液效果会更好,其次我们也知道无水乙醇是无毒的,丙酮是有毒的,所以出于实验安全的考虑我们也应该选择无水乙醇作为提取液。故综合考虑下来,我最终确定选择无水乙醇最为提取液。

(五) 不同的画线方法进行对比

F 组:

F 组实验的单一变量为不同的画线方法,实验中材料用冬季的菠菜,滤纸选择两端剪去 70° 两角的滤纸,提取液选择无水乙醇,最终用毛细吸管徒手进行画线。



手画

直尺

蘸取

图 7: 不同的画线方法的色素分离效果图

图 7 为在保持其他条件都保持一致的情况下不同的画线方法得到的不同的色素带,由图中我们可以看出效果最好的为徒手用毛细吸管画线,其次为利用直尺比着用铅笔画的线来用毛细吸管画,效果最差的是把滤纸沿着铅笔线将滤纸折叠成两层,然后轻轻蘸取提取液。做实验过程中我也分析了种种原因,徒

手画虽然刚开始误差大,但是只要多画几次熟练之后画的线就效果很好,但是如果借助直尺的话色素很容易沿着直尺扩散更加导致了色素带不直,出现很大的波动。最后用蘸取的方法可以很好的解决画线不直的问题,但蘸取时间不能太久(防止色素扩散),故导致色素颜色不是很深,效果也不是特别明显。综合以上分析,我得出最好的画线方法是在多练习的基础上徒手画线。

三、结语

综合我们探究了这么多影响实验结果的因素,最后得出了最好的实验方法与选材:从实验实际出发,选择春季新鲜的菠菜作为实验材料,选择定性滤纸并将定性滤纸条的一端剪去的两角角度大小为 70° 且徒手来进行画线,然后选择无水乙醇作为提取液,不但实验效果明显,而且能减轻对实验者的身体健康伤害及实验者害怕中毒的心理压力,安全性更高,可操作性更强,可为今后的中学生物教法实验提供有效的理论和实践参考。

参考文献:

- [1] 李思颖.对“叶绿体中色素的提取和分离实验”的改进[J].中学生物学,2008,24(6):39.
- [2] 郝琦蕾,姜晋国,刘艳芳.“叶绿体中色素的提取和分离”实验的改进[J].生物学通报,2006,41(4):55.
- [3] 刘艳菁.“叶绿体中色素的提取和分离”实验的改进[J].实验教学与仪器,2011(S1):109-110.
- [4] 张志良,瞿伟菁,李小芳.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2009:54.
- [5] 范树国,王朝英,邱璐,李国树,李天星,杨海艳,梁晓华.中学“叶绿体中色素的提取和分离”实验的优化[J].江苏农业科学,2012,40(3):245-247.
- [6] 梁琰.叶绿体色素的提取、分离实验中的几个为什么及改良[J].铜仁学院学报,2007,1(5):103-105.
- [7] 罗卫东.“叶绿体中色素的提取和分离”实验改进[J].中学生物教学,2004(Z2):52.
- [8] 刘东奇.“绿叶中色素的提取和分离”实验的改进[J].中学生物教学,2014(5):72.

本文系:忻州师范学院教改项目:基于建构主义理念下合作探究式教学策略在“中学生物教法实验”中的运用研究(项目编号:JG201812)

作者简介:第一作者郭青枝,第二作者、通讯作者杨小峰,第三作者郭春燕。