

# 海藻の教材化への試み(その1)

—— 塩蔵ワカメと乾ノリを用いた薄層クロマトグラフィー ——

荒木 勉

この研究では、高校生物の光合成学習における光合成色素の検出について、海藻類にも多様な色素が含まれることを、市販の塩蔵ワカメや乾ノリを材料として確かめられるか検討した。また、シリカゲル薄層クロマトグラフィー法が、一時間の生徒実習に可能かどうか併せて検討した。

## 1 はじめに

高校生物の光合成学習における光合成色素の分離実験は、ホウレンソウやシロツメクサなど陸上の高等植物を材料に、ペーパークロマトグラフィーで行われることが多い。しかし、ペーパークロマトグラフィーでは各色素のスポットが不明瞭になったり、試料精製のでき具合によってはテーリングを起したりして、クロマトグラフィーに不慣れな生徒にとって限られた授業時間内での実施には難点も多い。また、光合成を行う植物は総て緑色であるというイメージを抱いている生徒も多く、一般になじみの少ない褐色や紅色の海藻類などについては、光合成を行う植物の種類を問う教師の質問に対して想起だにされない。

そこで、このような海藻類のイメージの払拭と光合成色素の簡便な分離実験を探る目的で、この研究を行った。併せて、1時間の授業内での実践についても若干の考察を行なった。

## 2 材料と方法

### (1) 材料

新潟県内の海岸では、アマノリ属(アサクサノリの仲間)は1~4月、ワカメは4~6月頃に生体の採取が可能であり、その他緑藻類のアナアオサや褐藻類、紅藻類も通年採取可能である。しかし、今回は、季節や地域性など容易には入手不可能なことを考慮して、市販の塩蔵ワカメ(*Undaria pinnatifida*)と乾ノリ(*Porphyra* sp.)を使用してその教材性を探った。また、この他に比較のための生材料として、陸上植物にホウレンソウ(*Spinacia oleracea*)、緑藻植物にアナアオサ(*Ulva pertusa*)とヒトエグサ(*Monostroma nitidum*)、ウップルイノリ(*Porphyra pseudolinearis*)を使用した。その他にも市販されている乾燥海藻のコンブ、ヒジキ、フノリ、トサカノリなども調べてみたが、いずれも色素抽出が思わしくなく教材としては不適当であると考えた。

乾ノリ(板ノリ)は、普通アサクサノリとして市販されているが、現在養殖されているアマノリ属は

主にアサクサノリ (*P. tenera*) とスサビノリ (*P. ezoensis*) の2種あり、その比率はおおよそ1 : 9であるという (山本海苔研究所)。これらは採取後、板ノりに漉きあげる前処理として、ミキサーにて細断してあるため、今回使用した乾ノリが前記2種のどれであるか同定はできなかった。

塩蔵ワカメは、宮城県沿岸産で、一旦湯通しをしたあと生重量の30%の食塩をまぶしてある。

ヒトエグサは、生食用として市販されていた浜名湖産のものであるが、冷暗所に保管しておいても傷みが早く、それが結果にも現われている。アナアオサとウップルイノリは、岩室村間瀬の海岸で採集し共に、比較のため風乾させて用いた。

## (2) 方法

横浜および御園生・横浜のシリカゲル薄層クロマトグラフィー法を若干簡便化して行った。この方法では、従前のペーパークロマトグラフィーに対して試料調製時の水分混入が少なく、極めて短時間で展開が済み (10cmのプレートではおおよそ15分で上端にまで液が上昇する)、また、わずかな試料でもスポットが明瞭に現われるという利点がある。一方、使用した市販のシリカゲルプレートは相当高価なうえ大判 (20cm×20cm, メルク社製) なので、生徒実習では1cm×10cm程度に細断すると良い。また、この試料調製ではジエチルエーテルを用いて行うため水溶性の紅藻色素 (フィコエリトリンなど) は検出できない欠点もある。実施にあたっては、これらのことも考慮する必要がある。

①色素液の精製——1~2gの材料を乳鉢にとり、1~2mlのメタノールを加えてすりつぶす。

・ホウレンソウやシロツメクサでは、生材料のままこの操作を行えば十分な試料が得られる。

・塩蔵ワカメは30分ほど、また、アナアオサ、ヒトエグサ、ウップルイノリは短時間、それぞれ淡水に浸して塩分を取り除き、風乾させて用いた。

②メタノールで抽出した試料を、ピペットを用いて試験管に移し、等量のジエチルエーテルを加える。

③次に10%食塩水を少しずつ滴下すると、色素を含んだエーテル層とエタノールを含んだ食塩水層の二層に分離する (図1)。これを2回繰り返す。乾ノリから抽出したもの (図1のD) では、やや不明瞭だが実際には、下層に水溶性のフィコエリトリンなどが溶け紅色を呈している。

④分離したエーテル層を小試験管に移し、アスピレーターに繋ぎ吸引し乾固させる。エーテル層を移すときに、極力水分を混入させないようにする。1~2mlのエーテルは4~5分で蒸発し、試験管の底の管壁に色素が付着する。底に水滴が残っているなら極細のピペットで吸い取

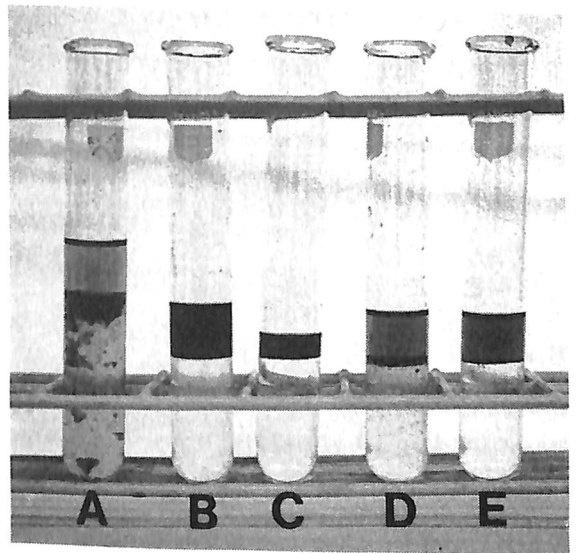


図1 10%食塩水で色素を含むエーテルの分離の様子  
A-ワカメ (残滓を含む), B-ホウレンソウ, C-アナアオサ, D-乾ノリ, E-ウップルイノリ

っておくと保存によい。これはアルミホイル等で遮光し冷蔵庫等でしばらく保存できる。

⑤シリカゲル薄層プレートによる展開

④で得られた色素試料を、1～2滴のエーテルに再溶出させ、プレート上にプロットする。展開溶媒は、石油エーテル・アセトン（7：3 v/v）を用いた。展開時間は15分とし、その時の室温は24℃であった。

3 結果と考察

各植物から抽出した色素試料のシリカゲルTLCプレートによるクロマトグラムを図2、3に示した。

ホウレンソウ、アナアオサ、ヒトエグサの3種類とも緑色植物（Chlorophyta）なので、現われる色素のスポットは、量的な差以外はほとんど同じパターンを呈している。ホウレンソウとアナアオサの両種が最も大量に色素を抽出でき、ほんのわずかな材料があれば充分である。また、分離する色素も図2では不明瞭であるが、実際には色鮮やかに観察でき、生徒実習には最適な材料であろう。

ヒトエグサは藻体が一層の細胞層からなり、組織の崩壊が早く充分な色素試料が得難く、不明瞭なスポットしか現われぬが観察はできる。

これら3種では、溶媒前線のすぐ下に黄色のカロテンが位置し、順次下方へ鮮青緑色のクロロフィルa、暗緑色のクロロフィルb、黄色のルテインが確認できた。ホウレンソウとアナアオサではさらにその下方に2～3つ黄色いスポットが現われ、これらはビオラキサンチンやネオキササンチンであると推測できる。カロテンの下方でクロロフィルaの上方には、クロロフィルの分解したフェオフィチン（暗灰色）を中心に不明の色素スポットもある。

褐藻類のワカメ（塩蔵ワカメ）では、最上端に緑色植物と同様にカロテンが現われるが、図2では見えていな

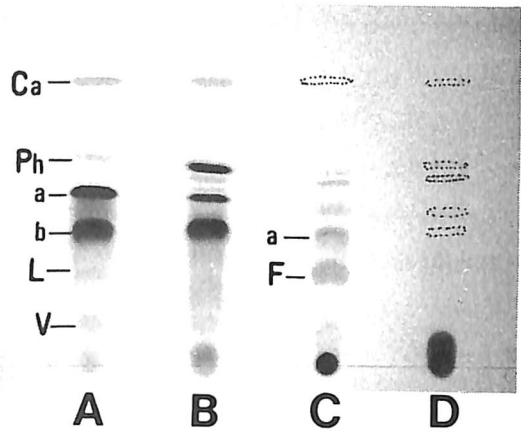


図2 ホウレンソウ(A), アナアオサ(B), ワカメ(C), ヒトエグサ(D)から抽出した色素のクロマトグラム  
Ca-カロテン, Ph-フェオフィチン, a・b-クロロフィルa, b, F-フコキササンチン, L-ルテイン, V-ビオラキサンチン

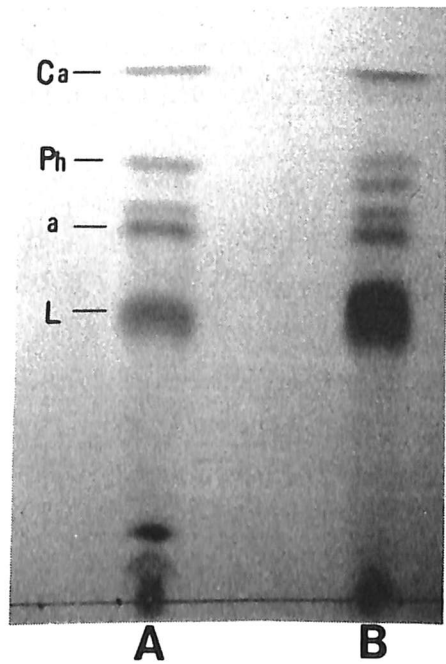


図3 アマノリ属のクロマトグラム, A-ウップルイノリ, B-乾ノリ, 色素記号は図2と同じ

い。緑色植物のクロロフィル $a$ の高さに位置する黄色のスポットは、色彩的にはルテインのようにも思われるが、 $Rf$ 値も大きく異なり不明である。さらに、その下のスポットは青緑色を呈しクロロフィル $a$ と推定できるが、 $Rf$ 値がクロロフィル $b$ の値に近く問題を残している。ワカメは褐藻類の中でもフコキサンチン(褐藻素)の含有量が多く、図2でも橙黄色の大きなスポットとして現われ、褐藻類の特徴を強調している。塩蔵ワカメのルテインらしきスポットと $Rf$ 値の異なるクロロフィル $a$ などについては、塩蔵ワカメの製品化の過程で熱湯の中をくぐらすことから、各色素に何らかの変質が起こっていると考えられる。

アマノリ属のクロマトグラムは図3に示した。これらでは乾ノリとウップルイノリとの色素量の違いはあるが、ほぼ同様の結果が得られた。上方から、カロテン、クロロフィル $a$ 、ルテインの3種類の色素までは充分確認可能であるが、フェオフィチン以下に現われた黄色のスポットは確認できなかった。乾ノリでは、ウップルイノリに比べ色素抽出が容易である。いずれにしろ、これらの方法では紅藻類に含有されているフィコエリトリンやフィコシアニンなどのフィコビルン系色素の検索はできない。浅所産のアマノリ属などでは、クロロフィル $a$ に比してのフィコエリトリン含有率が低く、色素試料の調製時に、メタノール・食塩水混合属に残滓とともに含まれ、溶出したフィコビルン系色素によって液が淡紅紫色になるので、その存在がわかる程度である。

ホウレンソウとアナアオサから抽出した色素の $Rf$ 値は、文献から期待される値にほぼ近いものが得られたが、塩蔵ワカメと乾ノリでは差が大きいので $Rf$ 値について記載はせず、今後の検討課題とした。

#### 4 おわりに

シリカゲル薄層クロマトグラフィーを用い、塩蔵ワカメと乾ノリが光合成色素分析の教材として可能かどうかを試みた。塩蔵ワカメの色素に $Rf$ 値などの問題はあがあるが、アナアオサも風乾後冷暗所で長期保存が可能なることを考えると、この2種に加え乾ノリとホウレンソウを準備すれば、季節や地域性をあまり考慮せずに生徒実習が可能なることがわかった。簡単な実験操作で試料が得られ、15分ほどで鮮やかに展開する方法は、授業にあまり関心を示さない生徒たちにも興味を起こさせるものと思う。さらに、生藻体の入手可能な地域であれば多くの海藻から多様な色素の分離ができ、クラブ活動の研究課題として発展させることも可能である。

#### 参 考 文 献

- 1) 横浜康継：海産緑藻における緑色光吸収色素，その生態的意義と系統的意義，*Jap. J. Phycol.*，**29**，No. 3，(1981)，p 209～222
- 2) “：海藻の謎 — 環境と人間の科学5，(三省堂，1982)
- 3) “：海の中の森の生態 — 海藻の世界をさぐる，(講談社，1985)
- 4) 御園生・横浜：海藻の光合成色素，*遺伝*，**40**，No. 3，(1986)，p 11～16