

叶绿素的提取及理化性质的鉴定 17

叶绿素是植物吸收太阳光能进行光合作用的主要色素，高等植物叶绿体中主要含叶绿素 a 和叶绿素 b。

图 17.1 叶绿素分子式

叶绿素是一个双羧酸的酯，在碱的作用下可发生皂化反应，产生叶绿酸钾。在酸性条件下，卟啉环中央的镁离子可以被 H^+ 取代，产生褐色的去镁叶绿素。叶绿素中的 Mg^{++} 也可以被其它金属离子，如 Cu^{++} 或 Zn^{++} 等取代，此时叶绿素仍保持绿色。叶绿素在光照下会发出暗红色的荧光。

实验目的：

1. 了解叶绿素的分子结构、理化性质及其生物学功能。
2. 学习提取叶绿素并对其理化性质进行分析的基本方法。

实验内容：

利用叶绿素能溶于有机溶剂的特性，用丙酮将叶绿素从叶中提取出来，再运用一些简单的物理和化学方法鉴定叶绿素的理化性质。

实验步骤：

1. 叶绿素的提取

▲ 将新鲜菠菜 (*Spinacia*) 叶片洗净擦干，去叶柄及叶脉。称取样品 8g，剪碎置研钵内，加入 $8cm^3$ 丙酮及少许固体碳酸钠，迅速研磨成匀浆；然后再加入 $20cm^3$ 丙酮充分研磨。

▲ 在一玻璃漏斗底部垫一小团脱脂棉，将匀浆通过脱脂棉过滤至已装有 $20cm^3$ 石油醚的分液漏斗中，再用少量的丙酮冲洗叶片残渣及研钵，合并滤液。

▲ 沿分液漏斗的壁小心加入 $40cm^3$ 蒸馏水，轻轻摇动，使色素转移到上面的石油醚层静置数分钟，待分层清楚后弃去下面的丙酮——水层。如发生乳化现象可加入 2— $3cm^3$ 饱和 NaCl 溶液。

▲ 在分液漏中再加入 $40cm^3$ 蒸馏水，轻轻摇动，以洗去石油醚中残留的丙酮，共洗两次。然后将叶绿素的石油醚提取液放入具塞锥形瓶中，置暗处或用黑纸包好备用。

2. 叶绿素理化性质的观察

▲ 光对叶绿素的破坏作用

分别在两支具塞试管中注入 $2cm^3$ 叶绿素的石油醚提取液，盖紧塞子。一支置暗处，一支置强光(如太阳光)下，2—3h 后，观察比较两者的变化差异，或在分光光度计的 663nm 处

比较二者的吸光度值的差异，将结果记录在实验报告中。

▲ 叶绿素的皂化反应

在一支试管中先加入 2cm^3 叶绿素石油醚提取液，再加入 2cm^3 新配制的 30% KOH—甲醇溶液，用力摇动混匀后静置，待分层清楚后观察各层的变化，将观察结果记录在实验报告中。

▲ 去镁叶绿素的形成

在一支试管中加 2cm^3 叶绿素石油醚提取液，然后小心加入 3cm^3 $6\text{mol}/\text{dm}^3$ HCl，摇动混匀后静置，待分层后观察各层的变化，记录观察结果。

▲ 铜的取代作用

在一支试管中加入 3cm^3 叶绿素丙酮提取液，然后加入 3cm^3 $6\text{mol}/\text{dm}^3$ HCl，摇匀后再加入一小块醋酸铜结晶，将试管在水浴中微微加热，观察溶液的颜色变化，记录观察结果。

▲ 叶绿素的荧光

在一支试管中加入 2cm^3 叶绿素石油醚提取液，在与入射光(如窗口的自然光)相垂直的方向观察叶绿素荧光，记录观察结果。

综合分析：

1. 叶绿素在植物光合作用过程中起什么作用？
2. 提取叶绿素时加入 Na_2CO_3 的作用是什么？加多了可能出现什么问题？

实验报告

姓名：学号：组（桌）号：

叶绿素理化性质的分析鉴定

植物材料：		实验日期：
处 理 方 法 和 试 剂	反 应 结 果	结 果 分 析