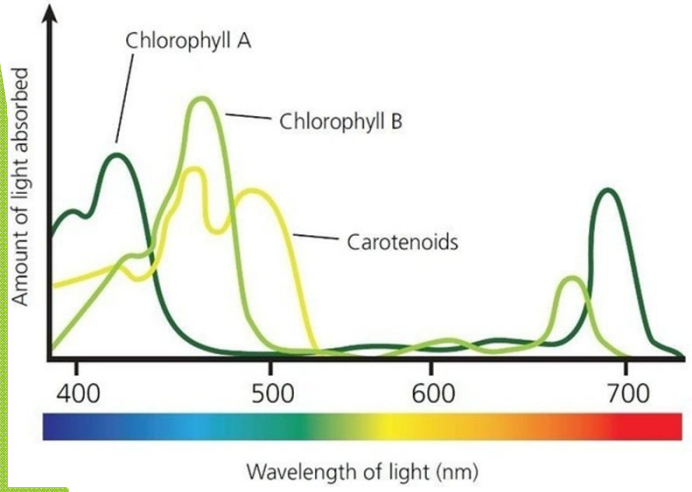
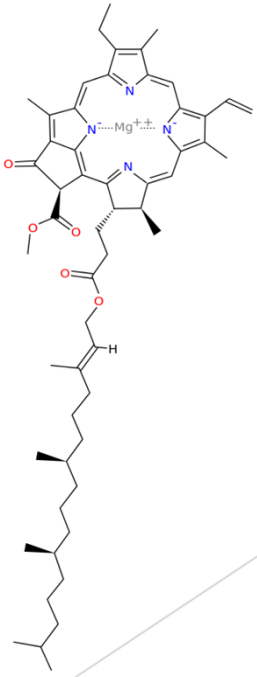
Exp.15 Photosynthetic pigments

- 葉綠素(Chlorophyll)是普遍存在具光合作用能力生物中，主要反射綠光的光合色素的合稱，並可依照其吸收波段被分為葉綠素a, b, c及d。
- 葉綠素a和葉綠素b的吸收光譜較為接近，兩者在藍紫光（430~480nm）和紅光區（640~660nm）都有一吸收高峰，葉綠素ab對綠光的吸收很少，所以呈綠色。
- 葉綠素由$Mg2^{+}$為中心的N環(卟啉)，側鍊和長碳氫化合物（$C_{20}H_{39}O$）組成。
- 萃取葉綠素應快速且避免弱酸、光或熱，否則會產生棕色色素–脫鎂葉綠素，一種缺乏中心Mg^{2+}離子的葉綠素分子。





葉綠素a的結構

- **Reagents:**

1) Sodium Carbonate
2) Acetone
3) Petroleum ether
4) 30% KOH-methanol
5) 6M HCl
6) Cupric Acetate
7) Fresh leaves

Procedure

秤約2g的新鮮葉子(不使用葉柄)，將葉子撕成片狀至研缽

↓

加入0.25g碳酸鈉、5ml丙酮，研缽杵磨碎直到丙酮成亮綠色，如需要可多加丙酮

↓

將濾液收集到裝有 10mL 石油醚的分液漏斗中，用另外 5mL 丙酮沖洗研缽和研杵，並將其轉移到分液漏斗中。(注意:石油醚易揮發、沸點~30℃，請以錐形瓶至抽氣櫃取藥品)

↓

在分液漏斗中加入 5mL 蒸餾水，輕輕搖晃，讓漏斗靜置幾分鐘，會有一個淺綠色的下層和一個鮮綠色的頂層。一定要分清哪個是水層，哪個是石油醚層。(上層石油醚層；下層水層)

↓

將水層棄入小燒杯中，再向漏斗中的石油醚層中加入 5mL 蒸餾水作為洗滌液

↓

新的水層應該是非常接近無色的，即使在搖晃並讓水層分離之後，再將底部水層棄入小燒杯

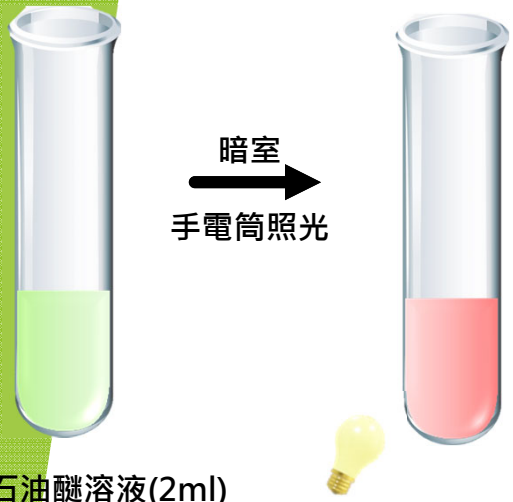
↓

每2mL提取液稱取四支試管

注意：
任何(尤其是放氣)的時候，分液漏斗的開口，不可朝向其他人或者是自己，以避免噴出物造成危險！

Exp15 Photosynthetic pigments

(1)

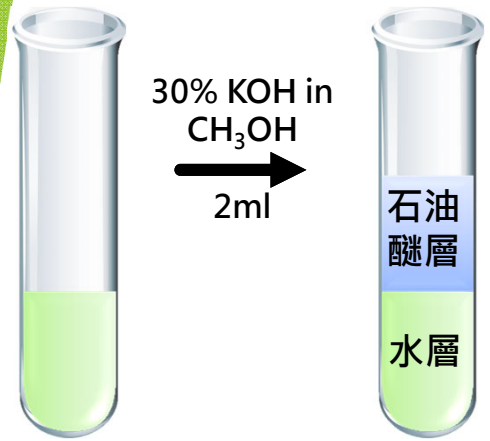


※若看不到紅色，
表示葉綠素太濃，
再加石油醚稀釋即可

顏色: 紅色

原因:
照光使得葉綠素被激發到激發態而放出紅光
(停止照光則又回到基態顯現綠色)

(2)

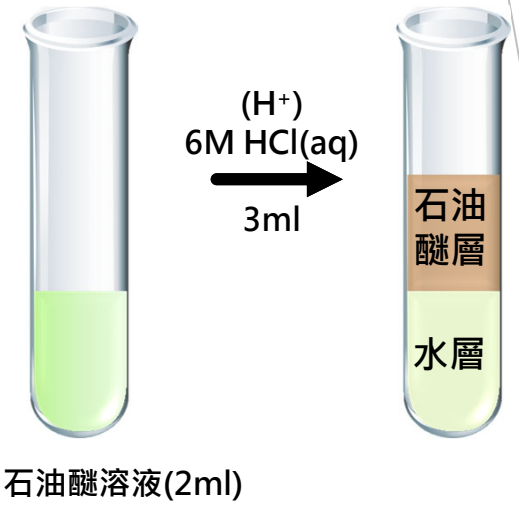


原因:
因皂化產生
葉綠素(綠色)(水溶性)

顏色:
淡綠色or透明無色

顏色: 綠色

(3)

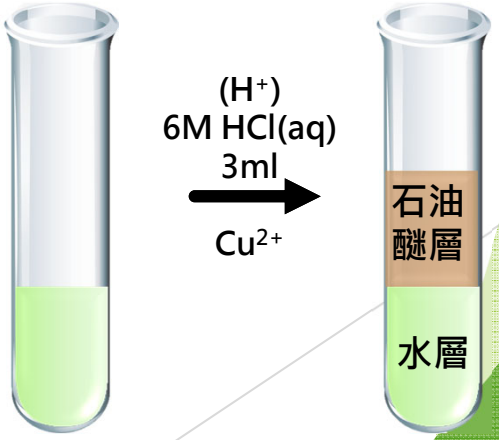


顏色: 褐色

顏色:
貼近透明無色

原因:
加入H^+形成褐色的脫鎂葉綠素(因為中心原子Mg被H取代)

(4)



原因:
脫鎂葉綠素轉為銅代葉綠素(水溶性)
(部分中心H原子又被Cu取代)

顏色: 褐色

顏色: 綠色

Results

- Record your observations.
- Why is sodium carbonate added during grinding?
- 注意:此次實驗含有丙酮、石油醚、甲醇，請倒至有機廢液桶，請勿倒入水槽!