

HPLC-蛍光分光検出器を用いた クロロフィルの分析

川守田 芳 朗*・伊 達 蕙**

Fluorescence High-performance Liquid Chromatography of Chlorophylls

Yoshiaki KAWAMORITA and Kaoru DATE

Abstract

The three types of the respective chlorophyll a (Chl-a) and chlorophyll b (Chl-b) extracted from spinach leaves are investigated by using high-performance liquid chromatography with spectrophotofluorometer. The fluorescence spectrum in the red region of them are composed of one major band and another minor band. The major bands of three types with Chl-a had peaks at 668, 670, 670, nm and with Chl-b at 650, 658, 658 nm. All the minor bands of three types with Chl-a or Chl-b had peaks at 720-730 nm.

By means of this major band, qualitative and quantitative analysis of Chl-a down to 10^{-11} g can be achieved. These obtained results are briefly discussed in view of chlorophylls eluted.

1 緒 言

緑色植物が行う光合成で重要な役割を演ずるクロロフィルは、光化学反応を引起す物質として注目を集めており、高い精度でかつ迅速にクロロフィルを定性・定量分析する方法が望まれている。生体中 (in vivo) におけるクロロフィルを分離抽出し、分光学的に定量する方法が提案されている¹⁾。しかし、分光学的手法を用いて、抽出したクロロフィルやその微量の誘導体およびその他の微量の光合成色素などを迅速に分析することは、クロロフィルの吸収スペクトルがその他の微量成分のスペクトルをマスクする点で困難であった。

近年、薄層クロマトグラフィ (TLC)²⁾ や高速液体クロマトグラフィ (HPLC)³⁾ を用いた光合成色素の定性・定量分析に関する方法が報告さ

れている。しかし、これらの方法にはそれぞれ一長一短があり、迅速な定性分析や定量分析であるとは言い難い。TLC においては定量分析の複雑な段階における操作性に、HPLC では分離過程において移動相の組織を変化させるため分離に時間を必要とし、さらに光合成色素の検出には紫外の単一波長を使用するため定性分析に関する知見を一度の分析で直接得ることが出来ないなどの点である。

今日、HPLC 分析の迅速化を図るため、紫外・可視領域の吸収ベクトルを実時間で検出しかつ、複数のクロマトグラムを同時記録出来る検出器が開発されている。我々はこの装置を HPLC の検出器として用い、溶媒を用いて抽出した光合成色素を分離し文献値と比較して解析し報告した⁴⁾。その結果キサントフィルや保持時間の異なる三種類のクロロフィル a および b を検出した。クロロフィルはスペクトルの青色部と赤色部の領域を吸収するが、蛍光を発するのは赤色部分だけである。この蛍光を利用する

昭和 61 年 10 月 31 日受理

* 一般教育部助手

** 一般教育部教授