叶绿体色素实验的创新与实践

车文玉
（上海师范大学附属宝山罗店中学，上海 201908）

摘　要：在叶绿体色素实验中，借助粉碎机、超声装置及层析柱等设备，可缩短操作时间并精确控制实验变量，从而将验证性实验转变为探究性实验。在教学中，学生将叶绿体色素提取分离、分光光度法等实验技术学以致用，经历“样品选择—组织破碎—提取分离—测定含量”的探究过程，提升了现象观察、定量测定、数据处理与解释等科学探究技能。

关键词：叶绿体色素；分光光度法；实验改进；实验拓展；高中生物学
DOI：10.19935/j.cnki.1004-2326.2026.10.033
引用格式：车文玉.叶绿体色素实验的创新与实践[J].实验教学与仪器，2026，43(10)：121-123.

探究性实验课堂以学生为主体，鼓励学生独立思考、合作探究，教师与教材为学生提供方法指导和理论支撑，有效促进学生创新思维能力的发展。“样品选择—组织破碎—提取分离—测定含量”是生物学研究的常用方法，其中提取分离主要包括过滤、离心、纸层析、电泳等技术手段，基于细胞或分子的物理特性选择合适的方法，可加深学生对细胞结构和分子性质的认知，强化结构与功能观。

1　教材与学情分析

“叶绿体色素实验”选自沪科版高中生物学必修一《分子与细胞》“叶绿体将光能转换并储存在糖分子中”，对应课标次位概念“2.2.3说明植物细胞的叶绿体从太阳光中捕获能量，这些能量在二氧化碳和水转变为糖与氧气的过程中，转化并储存为糖分子中的化学能”。教材安排了提取、分离和测量色素的实验，由于增加了叶绿素含量的测定，一个课时内实验课会显得仓促且枯燥。此前学生已经学习了叶绿体色素的存在场所、分类及吸光特性，为本课打下了理论基础。经历“测定蛋白质浓度”和“探究温度对淀粉酶活性影响”两个定量实验，学生已具备了使用分光光度计、移液枪等精密仪器的能力，这为本实验的实施奠定了技术基础。同时，高一学生对实验课的热情较高，能够基于实例进行初步分析和深入探究。

2　实验教学思路与方法改进

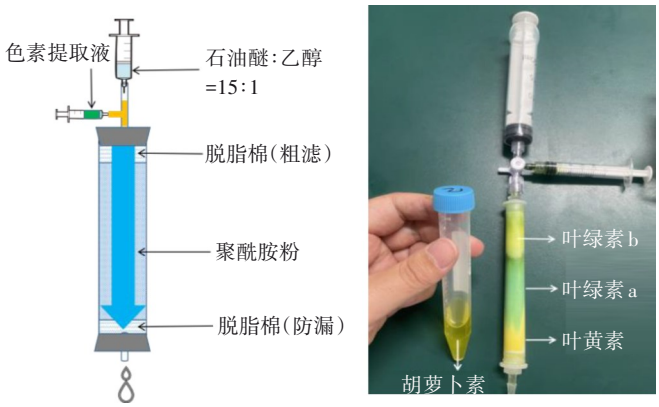
2.1　采用混合式教法，提高自主性与探究性

课前以任务单和微课形式落实知识背景、实验原理以及柱层析操作内容。学生熟悉原理和方法后，小组自主确定探究课题、采样及处理样品，为课上探究和讨论留足时间。小组分工合作可充分调动学生的参与度和责任感，提升其科学探究和团队合作能力。

2.2　优化实验器材，精准控制变量，加快实验进程

（1）第一步提取色素：利用粉碎机、超声装置替代研磨和过滤，不仅减少有机溶剂的挥发，同时避免了研磨力度和时间不同造成的实验误差。

（2）第二步分离色素：利用柱层析（填充物为聚酰胺粉）代替纸层析（图1-a）。预实验后，教师综合纸层析结果、安全性和分离速度，确定层析液为石油醚（PE）和乙醇（EtOH）两种有机溶剂的混合液（体积比为15∶1）。学生吸取定量的色素提取液和层析液，连接层析柱并依次推入，操作时间只需3 min左右，层析结果清晰明了（图1-b）。



a 柱层析装置　　b 柱层析结果

图1　柱层析装置和柱层析结果

2.3　增测胡萝卜素浓度，丰富探究内容

除依据教材方法测定叶绿素含量外，学生还可以利用柱层析收集胡萝卜素，并测定其含量。教师课前测定胡萝卜素吸收光谱，课上引导学生依据实验原理，选择合

适的波长，利用标准曲线（图2）测量。学生经历“样品选择—组织破碎—提取分离—测定含量”的完整过程，对层析法和分光光度法的理解更加深入。

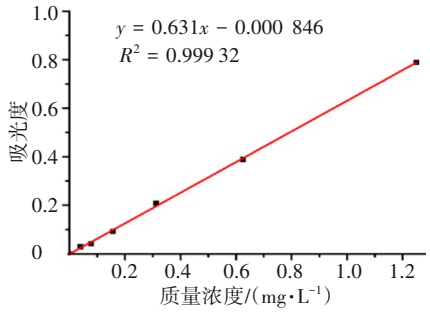


图2 β-胡萝卜素标准曲线（450 nm）

3 教学目标

依据课程标准的内容要求、学业要求和学业质量标准，并围绕培养学生生物学学科核心素养的要求，制定如下教学目标。

（1）经历叶绿体色素提取、分离和测定的实验操作，描述色素的种类和颜色，认识层析法和分光光度法是物质分离和测定的重要方法。

（2）通过小组合作经历科学探究的过程，掌握实验设计的基本原则，提升科学探究能力和团队合作能力。

（3）通过分析、比较和评价实验结果，提升归纳总结、解释数据的科学思维能力，初步形成结构与功能观、适应观等生命观念。

4 教学过程

4.1 课前——自主学习，确定课题

课前，教师发放学习任务单及柱层析操作视频，要求学生阅读教材和观看视频后自主完成任务一和任务二，理解实验原理，学习实验方法。基于实验方法完成任务三，以小组为单位确定研究课题，初步设计实验并进行样本预处理。

任务一：阅读课本88~92页并填空。

①光合色素主要分布在____膜上，分为_____、_____、_____、_____4种。

②因为色素具有亲脂性，所以可选用溶剂_____提取色素。

③因为不同色素在有机溶剂中的溶解度不同，在吸附载体上的吸附能力不同。因此，_____，这样就可以将它们彼此分离。这种方法称为___法。

④因为叶绿素主要吸收____光和_____光，类胡萝卜素主要吸收____光。可利用分光光度计分别测定色素提取混合液（稀释N倍）在665 nm、649 nm波长处的吸光度（A），记为A_{665nm}和A_{649nm}，代入公式“叶绿素a浓度(mg/L)=$N\times(13.70A_{665nm}-5.76A_{649nm})$；基于叶绿素b浓度(mg/L)=$N\times(25.80A_{649nm}-7.60A_{665nm})$”计算叶绿素含量。

⑤因为胡萝卜素在450 nm处有最大吸收值，所以可利用分光光度计测定胡萝卜素收集液（稀释N倍）在450 nm波长处的吸光值y，代入标准曲线”$Y=0.631X-0.000\ 846$”，计算胡萝卜素含量=$X\times N$(mg/L)。

任务二：观看柱层析操作微课视频，学习柱层析方法。

任务三：设计实验并进行样本预处理。

①分组：小组成员_____（5~8人）。

②确定课题：_____。

③作出假设：_____。

④设计实验：自变量：_____；

因变量：色素种类（柱层析法）；色素含量（分光光度法）；

无关变量：_____（提示：保持一致）。

⑤采样：借助识图软件识别植物后采集叶片，记录叶片形态特点和生长环境。

⑥样品预处理：置于65 ℃恒温箱中烘干，备用。

设计意图：利用任务单驱动学生学习实验原理和实验方法，帮助学生明确学习方向，有效节约课堂时间，优化实验教学。理解原理和操作后将理论应用于实践，以小组合作的形式确定研究课题，不仅能提高学生的探究欲望，还有助于培养学生的团队协作和沟通能力，避免盲目操作。

4.2 课上——实施实验，分析讨论

（1）评价与确定实验方案。课堂上，教师先呈现某一小组的任务单，并邀请该小组代表汇报3个任务的完成情况，其他小组结合自己的任务单进行点评。最后，在教师的引导下，各小组依据设计实验的3个原则（单一变量原则、对照原则和平行重复原则）确定实验方案，结合教材与实际需求确定操作流程（图3）。教师板书操作流程，同时针对每个环节提出注意事项。

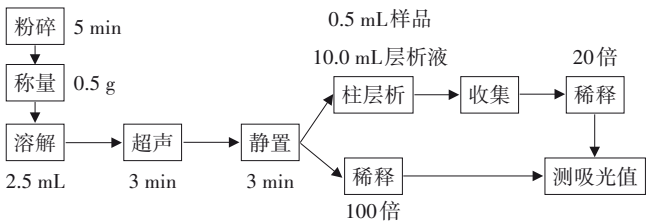


图3 实验操作流程

设计意图：本实验是教材基础实验的拓展与延伸。为了尽可能减少实验误差、提高实验效能，采取生生互评的方式落实实验方案，教师同时根据预实验将实验过程以及各环节所需时间和试剂用量进行统一规定，提高实验的成功率。

（2）分组活动，实施实验。教师播放柱层析微视频，强调柱层析的操作要点。各小组根据实验流程确定组内分工，开展实验，要求每小组组长记录实验的各个环节。教师巡视全场，对于小组在操作过程出现的问题给予纠

正和帮助。

设计意图：本节实验课涉及的操作步骤及仪器较多，学生实施实验具有一定的挑战性。另外，各小组操作能力有差异，在微课和教师同步指导下，能增加学生实验课的参与度与获得感。

（3）展示交流。实验操作结束，请小组代表将数据录入事先制作好的Excel表中，最终实验结果见表1。

表1 不同小组学生实验结果汇总表 单位：mg·g^{-1}

组序	植物种类	叶绿素a	叶绿素b	总叶绿素	胡萝卜素
1	瓜子黄杨[*Buxus sinica*(Rehder & E. H.Wilson)M.Cheng]	0.723	0.311	1.034	0.021
	冬青卫矛(*Euonymus japonicus* Thunb.)	1.146	0.664	1.810	0.028
2	二月兰[*Orychophragmus violaceus* (L.) O.E.Schulz]	3.021	0.950	3.971	0.105
	沿阶草(*Ophiopogon bodinieri* H.Lév.)	3.203	1.139	4.342	0.136
3	花叶蔓长春(*Vinca major* Linn.cv. Variegata Loud.)	1.576	0.584	2.160	0.028
	绿叶蔓长春(*Vinca major* L.)	4.195	1.561	5.756	0.059

教师提出问题串：①柱层析后色素带有几条？从上到下的颜色依次是什么？②不同植物色素种类是否相同？③不同植物色素含量是否有差异？除遗传因素外，这些差异可能与什么因素相关？④实验过程是否出现了操作失误的地方？对实验的结果有何影响？然后，邀请小组组长围绕以上问题展示、交流。

设计意图：通过设计并实施实验方案，进阶式培养学生的观察、定量测定、处理和解释数据等科学探究技能，树立结构与功能相适应、生物与环境相适应的观点。高一学生操作技能有待提升，对此，教师应引导学生分析操作过程中产生误差的原因，促其认识到规范、熟练操作可以使实验结果更加精准。

4.3 小组自我评价量表

小组自我评价量表如表2所示。

设计意图：本实验步骤较多，并涉及精密仪器分光光度计等的使用。设置评价量表，既能帮助学生分解实验过程，避免盲目操作，也能帮助教师发现教学的共性问题。另外，将合作过程和个人贡献纳入评价体系，让每个学生意识到自己的表现会直接影响到自己和小组的结果，从而激发起每个成员的参与感和责任感。

5 教学反思

本节课采用混合式教学法：课前，通过任务单和微课

表2 小组自我评价量表

步骤		操作要点	完成人	完成情况
提取		1.称取0.5 g叶片样品，置于离心管中		好 一般
		2.吸取2.5 mL乙醇，置于离心管中		好 一般
		3.混匀后超声波振荡3 min，静置3 min，备用		好 一般
柱层析		1.小注射器吸取上层提取液0.5 mL		好 一般
		2.大注射器吸取层析液10.0 mL		好 一般
		3.组装层析柱，依次缓慢推进提取液、层析液		好 一般
		4.记录实验现象，收集胡萝卜素		好 一般
测定吸光值	叶绿素	1.将上层提取液稀释100倍		好 一般
		2.倒入比色皿至3/4，设置空白对照		好 一般
		3.测定吸光值，重复测量3次		好 一般
		4.记录数据		好 一般
	胡萝卜素	1.收集胡萝卜素液并稀释20倍		好 一般
		2.倒入比色皿至3/4，设置空白对照		好 一般
		3.测定吸光值，重复测量3次		好 一般
		4.记录数据		好 一般
汇报		分析数据，得出结论		好 一般
收尾		所有用品归位后洗手		好 一般

的形式布置学习和探究任务；课上，通过改进实验器材和实验方法加速实验进程。学生以小组合作方式开展探究，不仅加深了对叶绿体色素的理性认识，还系统掌握了“样品选择—组织破碎—提取分离—含量测定”的基本流程，为后续探究性实验的开展奠定了基础。

并不是所有植物叶片都适合烘干处理。例如，某小组选择八角金盘为实验材料，烘干后发现叶片发黑。查阅资料得知，发黑可能是多酚氧化酶催化酚类物质（如单宁）氧化生成醌类聚合物所致。通过高温处理可破坏酶活性，从而保护色素[1]。基于此，该小组进一步改进实验流程展开探究。在此过程中，学生不再是流水线上的操作工，实验设计也不是纸上谈兵，而是像科学家一样经历“提出问题—探究问题—解决问题—发现新问题”的探究循环，真正做到了在实践中培育生物学核心素养。

作者简介：车文玉（1988—），女，高级教师，研究方向：高中生物学教育教学、传统实验的优化与创新，E-mail：447448775@qq.com。

参考文献

[1] 王玉.茶绿色素提取及其稳定性研究[D].泰安：山东农业大学，2005.