

## Bakteriochlorophyll / Absorptionsmethode

### Prinzip

Bakteriochlorophyll kann qualitativ und quantitativ nach Clayton (1963) bestimmt werden. Nach Aceton/Methanol-Extraktion, Absorptionsmessung bei 770 nm.

### Reagenzien

- Extraktionsmittel: Aceton und Methanol werden im Verhältnis 7:2 (v:v) gemischt und im Tiefgefrierfach des Kühlschranks aufbewahrt.

### Vorgehen

- Definiertes Volumen (Labor 5-20 ml, See 40-100 ml) einer Kultur filtrieren (GF/F, 0.7 µm Porengrösse).
- Filter in 4 ml vorgelegtes Extraktionsmittel in Glasröhrchen eintauchen, mit Schraubdeckel (mit Teflon-dichtung) verschliessen
- 12 Stunden im Dunkeln bei Raumtemperatur stehen lassen.
- 5 Minuten lang bei 2500 rpm zentrifugieren, ohne zuvor den Filter zu entfernen.
- Ueberstand mit Pasteurpipette in 1 cm-Glas- oder Quarzküvette überführen.
- Absorption bei 770 nm gegen Blindwert messen.

### Berechnungen

Aus der Extinktion (E) der mit Aceton/Methanol extrahierten Pigmente lässt sich der quantitative Gehalt an Bakteriochlorophyll a folgendermassen berechnen. Nach Lambert-Beer gilt:

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d \cdot \frac{1}{f}$$

$$c = \frac{E}{\varepsilon \cdot d} \cdot f$$

E = Extinktion (Messwert)

c = Konzentration

$\varepsilon = 75 [1 \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$ , millimolarer Extinktionskoeffizient (Clayton, 1963)

f = Verdünnungsfaktor / Konzentrierungsfaktor bzgl. des eingesetzten Probevolumens  $\frac{V_p}{V_L}$

$V_L$  = Volumen des Aceton / Methanol Extrakts [ml]

$V_p$  = Volumen der im Test eingesetzten See - oder Kulturprobe

MG (BChla) = 911 g/mol

Die Bakteriochlorophyll-Bestimmung ergibt nach Känel und Mez (1992) einen relativen Fehler von 10%.

### Literatur

- Clayton RK. 1963. Absorption spectra of photosynthetic bacteria and their chlorophylls. In: *Bacterial Photosynthesis*, ed. H Gest. et al., pp. 495-500. Antioch: Yellow Springs
- Känel B, Mez K. 1992. *Vielfalt und Dynamik mikrobieller Stoffwechselaktivitäten in der Redoxtransitionszone des Lago di Cadagno*. Diplomarbeit Universität Zürich