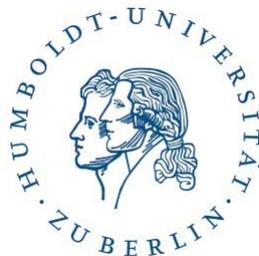


# **Biophysikalisches Grundpraktikum**

Wintersemester 2022/2023

## **Versuch 2**

# **Bestimmung der Photosensitivität von Grünalgen mittels Bewegungsanalyse**



**Olga Baidukova  
Yousef Kamrani  
Wayne Busse**

**Institut für Biologie / Experimentelle Biophysik  
Prof. Dr. Peter Hegemann**

HU - Exp. Biophysik  
AG Hegemann - Raum 401  
Invalidenstr. 42, 10115 Berlin  
[baidukol@hu-berlin.de](mailto:baidukol@hu-berlin.de)  
[yariyous@cms.hu-berlin.de](mailto:yariyous@cms.hu-berlin.de)  
[bussewaj@hu-berlin.de](mailto:bussewaj@hu-berlin.de)  
[www.chlamy.de](http://www.chlamy.de)

# 1. Physikalische Grundlagen

## 1.1 Licht

Licht ist die elektromagnetische Strahlung des Spektralbereiches, die für das menschliche Auge sichtbar ist. Licht kann aufgrund des Welle-Teilchen-Dualismus sowohl als Photon als auch als elektromagnetische Welle beschrieben werden, die sich im Vakuum mit der Ausbreitungsgeschwindigkeit  $c$  fortbewegt. Innerhalb eines Mediums wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit  $c_l$  durch den Brechungsindex  $n_l$  bestimmt. Die Wellenlänge  $\lambda$  bestimmt über die Beziehung  $E = \frac{h}{\lambda}$  die quantisierte Energie der elektromagnetischen Welle; in der Teilchenbeschreibung wird der Impuls  $p$  in der de-Broglie-Beziehung  $\lambda = \frac{h}{p}$  formuliert.  $\lambda$  der sichtbaren elektromagnetischen Strahlung reicht von 380nm (violett) bis 750nm (rot) (Abb.1). Man unterscheidet monochromatisches Licht, das aus Strahlung einer bestimmten Wellenlänge bzw. Farbe besteht, von polychromatischem Licht, das Strahlung mehrerer Wellenlängen bzw. Farben enthält. Unter der Strahlungsleistung  $P$  versteht man die Energie pro Zeit und Fläche, die von elektromagnetischer Strahlung transportiert wird. Die Strahlungsleistung von Licht wird mit Hilfe von Photodetektoren gemessen, die Strahlung über den Wellenlängenbereich von Licht messen können (z.B. 250...800 nm).

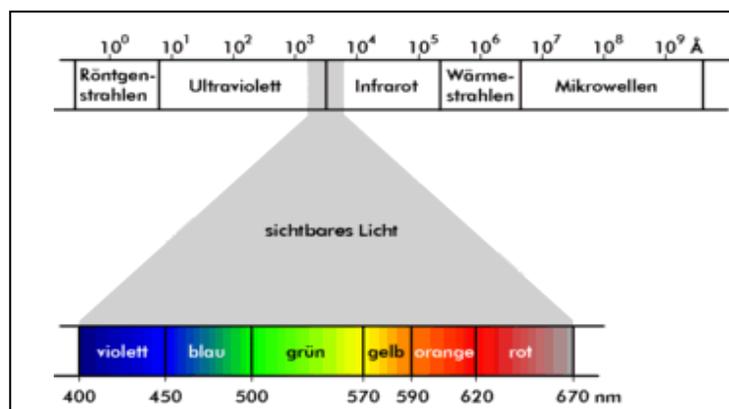


Abb. 1 Spektrum der elektromagnetischen Strahlung von  $1 - 10^9$  Å.

## 1.2 Wechselwirkung elektromagnetischer Strahlung mit Materie

Elektromagnetische Strahlung kann auf zwei verschiedene Arten mit Materie in Wechselwirkung treten: **Absorption** und **Streuung**. Bei der Absorption nehmen Atome oder Moleküle die Energie der einfallenden Wellen auf. Die Absorptionsbedingung ist nur dann erfüllt, wenn die Energiedifferenz zwischen Grundzustand und angeregtem Zustand des Atoms oder Moleküls der Quantenenergie der Welle entspricht. Je nach Wellenlängenbereich wird die Energie in unterschiedliche Prozesse übertragen: bei Mikrowellen in molekulare Rotation oder Torsion, bei Infrarotlicht in Molekülschwingung, bei sichtbarem Licht in elektronische Übergänge, bei UV-Strahlung in Photoionisation, bei Röntgenstrahlung in Ionisation. Bei elektronischen Übergängen kann ein Teil der Energie in Form von Fluoreszenz (oder Phosphoreszenz) bei Rückkehr in den Grundzustand wieder abgegeben werden.

Unter **Streuung** versteht man die Ablenkung von Teilchen- oder Wellenstrahlung (z.B. Licht) an einem Streuzentrum (in der Folge *Sekundärstrahler*), das ein Teilchen (z.B. ein Atom) oder ein größeres Objekt (z.B. ein Feinstaubpartikel) darstellen kann. Man unterscheidet *elastische* von *inelastischer* Streuung. Bei der *elastischen Streuung* (u.a. *Rayleigh-Streuung* und *Mie-Streuung*) haben einfallende Welle (*Primärwelle*) und emittierte Welle (*Sekundärwelle*) die gleiche Wellenlänge, d.h. die gleiche Energie; es findet also keine Energieübertragung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materieteilchen statt. Bei der *inelastischen Streuung* (u.a. *Raman-Streuung*) unterscheiden sich Primär- und Sekundärwelle in der Wellenlänge; aus der Energiedifferenz folgt eine Energieübertragung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materieteilchen (um den Betrag der Energiedifferenz).

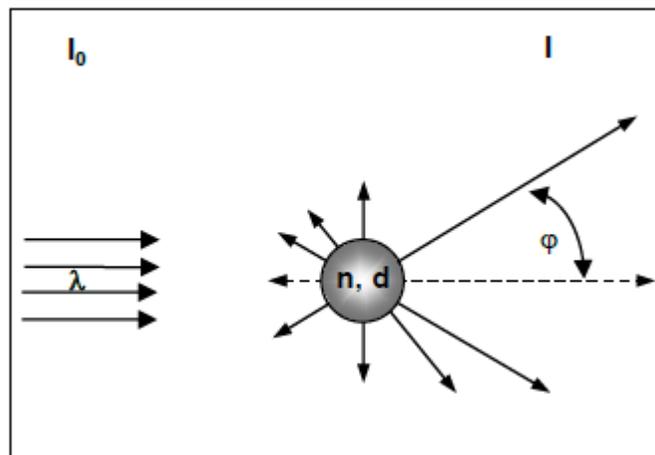


Abb. 2 Modell der Lichtstreuung (Größen).

Der Ablenkwinkel  $\varphi$  zwischen einfallendem und ausfallendem Licht ist von folgenden Faktoren abhängig (Abb.2):

- Durchmesser  $d$  des Partikels
- Form des Partikels
- Wellenlänge  $\lambda$  des einfallenden Lichtes.

Ein geordnetes System atomarer Streuzentren streut sichtbares Licht praktisch nicht, denn alle Sekundärstrahler löschen alle Sekundärwellen durch destruktive Interferenz aus; das ist bei einem idealen Kristall der Fall. In realen Kristallen mit Gitterfehlern als auch in Gasen und Flüssigkeiten mit lokalen Dichteschwankungen, d.h. Schwankungen des Brechungsindex  $n$  pro Zeit, liegt neben destruktiver auch konstruktive Interferenz vor. Praktisch ist also für eine experimentell beobachtbare Lichtstreuung ein Brechungsindexunterschied erforderlich, d.h. die Brechungsindizes von streuendem Partikel und dem umgebenen Medium müssen verschieden sein. Die Streuintensität ist der Differenz der Brechungsindizes direkt proportional. Weiterhin gilt über einen weiten Bereich, dass die Intensität  $I$  des Streulichts proportional der sechsten Potenz des Teilchendurchmessers ist.

### 1.3 Rayleigh-Streuung

Wenn der Durchmesser der streuenden Partikel  $0,1 \cdot \lambda$  nicht übersteigt, wird das einfallende Licht nach der von Lord Rayleigh entdeckten Gesetzmäßigkeit gestreut.

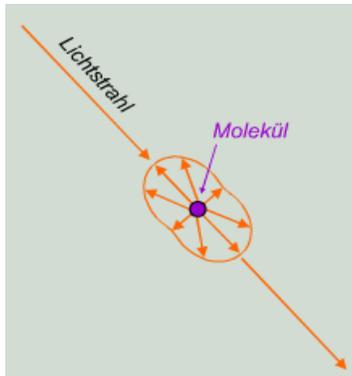
- Das gestreute Licht ist je nach Streuwinkel polarisiert
- Je kürzer die Wellenlänge ist, desto stärker ist die Streuung

Der Streukoeffizient  $\alpha$  berechnet sich dabei nach folgender Formel:

$$\frac{I_0 - I}{I_0} = \alpha_{R\lambda} = \frac{8\pi^3(n_\lambda^2 - 1)^2}{3\lambda^4 N}$$

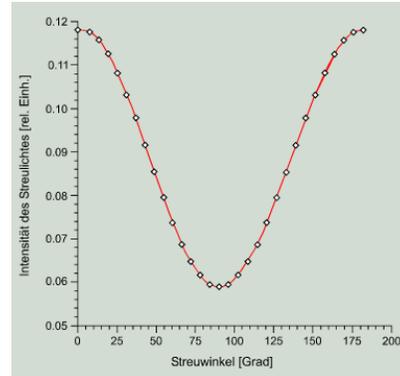
Dabei bezeichnet  $I_0$  die Intensität des einfallenden Lichtes,  $I$  die Intensität des Restlichtes nach der Streuung,  $\alpha$  den Streukoeffizienten,  $n$  den lichtwellenlängenabhängigen Brechungsindex der Luft und  $N$  die Anzahl der Moleküle pro  $\text{cm}^3$ .

Da die Wellenlängenabhängigkeit der Streuintensität mit  $\lambda^{-4}$  in die Formel eingeht, wird das blaue Licht mit einer Wellenlänge von  $4 \cdot 10^{-7}$  Metern im Vergleich zum roten Licht mit  $7 \cdot 10^{-7}$  Metern rund 10 mal so stark gestreut. Dies erklärt die Erscheinung des Himmelsblaus.



**Abb. 3 Streuung am Molekül: Rayleigh-Streuung.**

Die Länge der Pfeile bezeichnen die Intensität des gestreuten Lichtes.



**Abb. 4 Phasenfunktion der Rayleigh-Streuung.**

Im Fall der Rayleigh Streuung erfolgt die winkelabhängige Verteilung des gestreuten Lichtes nach der Beziehung:

$$I_{\varphi} = \frac{3(1 + \cos^2(\varphi))}{4}$$

wobei  $\varphi$  den Winkel zwischen der Einfallrichtung und der Emissionsrichtung des Lichtes angibt. Diese Beziehung zwischen dem Winkel  $\varphi$  und der Streuungsintensität  $I_{\varphi}$  wird als Phasenfunktion bezeichnet (Abb. 3 und 4).

## 1.4. Mie-Streuung

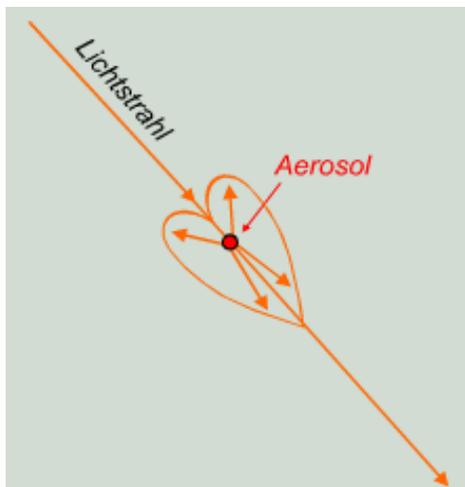
Mie-Streuung liegt vor, wenn die Wellenlänge des Lichtes klein ist gegenüber der Größe des streuenden Körpers. z.B.:

- sichtbares Licht (400-670 nm) an Wasser Tröpfchen, Rußpartikeln, Salzkristallen ( $\varnothing$  1...50 nm) oder Aerosolen ( $\varnothing$  0,1...10  $\mu$ m)
- Mikrowellen an Flugzeugen (Wellenlänge Mikrowellen: ca. 10cm, Flugzeugdurchmesser: ca. 2m)
- **Lichtstreuung an Mikroorganismen**

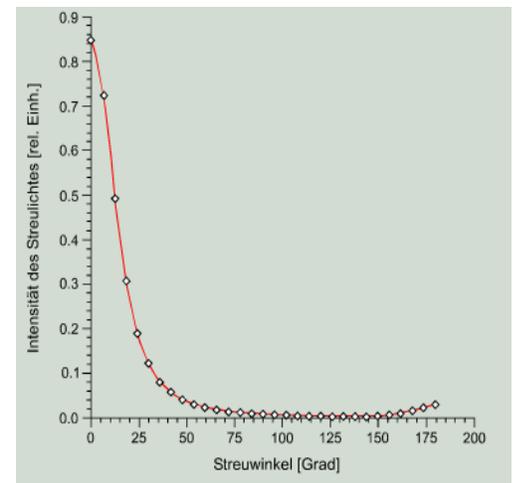
Es gibt wesentliche Unterschiede zwischen der Rayleigh-Streuung und der Mie-Streuung:

- Die Streuungsintensität der Mie-Streuung ist nicht von der Wellenlänge des einfallenden Lichtes abhängig.
- Die Richtungsverteilung der gestreuten Strahlung ist bei der Mie-Streuung viel asymmetrischer (Abb. 5)

Die Mie-Streuung ist hauptsächlich nach vorne gerichtet und alle Wellenlängen der Strahlung werden etwa gleich stark gestreut. Die **Phasenfunktion** (Beziehung zwischen dem Streuwinkel und der Lichtintensität) unterscheidet sich von der der Rayleigh-Streuung und ist in Abb. 6 dargestellt.



**Abb. 5 Streuung an Partikeln: Mie- Streuung.**  
Die Längen der Pfeile bezeichnen die Intensität des gestreuten Lichtes.



**Abb. 6 Phasenfunktion der Mie-Streuung.**

## 2. Die Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* und Phototaxis

### 2.1 Die einzellige Grünalge *C. reinhardtii*

*C. reinhardtii* (Abb. 7) hat einen Durchmesser von 8-10  $\mu\text{m}$ . Der größte Teil der Zelle wird von einem becherförmigen Chloroplasten eingenommen, der über Photosynthese die Energie für die Zelle bereitstellt. Die Absorptionsmaxima der Photosynthese-Pigmente liegen bei 400-450nm und 650-700nm (Abb. 7). Zur Fortbewegung dienen zwei Flagellen, die die Zelle mit einer Geschwindigkeit von etwa 120  $\mu\text{m} / \text{s}$  vorwärts treiben. Dabei rotiert die Zelle mit einer Frequenz von 2 Hz um die Längsachse. *Chlamydomonas* besitzt einen Augenfleck, der Teil des Licht-Wahrnehmungsapparates ist. Der Augenfleck selbst besteht aus mehreren Lagen von Carotinoid-Vesikeln im Abstand von 125 nm und liegt am Rand des Chloroplasten in unmittelbarer Nähe der Zellmembran, in der sich die eigentlichen Photorezeptoren befinden. Licht fällt entweder direkt oder indirekt via Reflexion durch die Vesikel auf die Rezeptoren, wodurch sich Kationen-Kanäle ( $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{H}^+$ ) öffnen und die Zellmembran depolarisiert wird. Infolge der Zellmembran-Depolarisierung kommt es zu einer Öffnung von spannungsabhängigen Kanälen in den Flagellenmembranen, woraufhin eine Änderung des Flagellenschlages induziert wird.

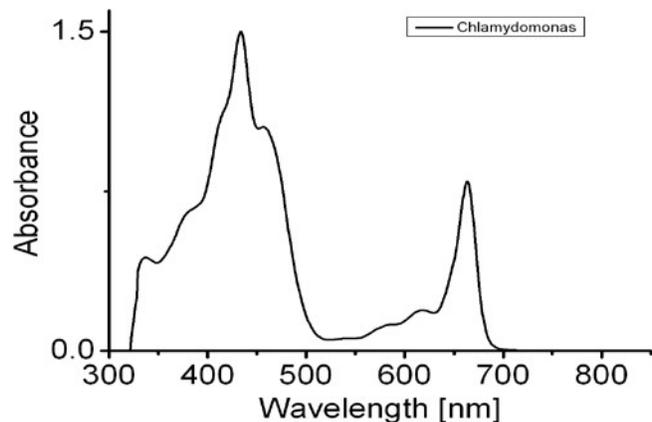


Abb. 7 *C. reinhardtii*-Zelle und Absorption Spektrum der Photosynthese Pigmente.

## 2.2 Phototaxis

**Definition:** Phototaxis ist eine durch Licht bewirkte, gerichtete, ortsverändernde Bewegung freibeweglicher Organismen.

Wie bei vielen phototaktischen Organismen unterscheidet man auch bei *C. reinhardtii* die Phobo-Phototaxis und die Topo-Phototaxis.

Phobo-Phototaxis liegt vor, wenn die Organismen bei einem plötzlichen Wechsel der Strahlungsintensität ihre Bewegungsrichtung ändern, die in keiner Beziehung zur Strahlungsrichtung steht. Die meist ziemlich abrupte Richtungsänderung wird als *photophobische Reaktion (auch Stopp-Reaktion oder Schreck-Reaktion)* bezeichnet.

Topo-Phototaxis liegt vor, wenn die Bewegung der Organismen durch die Strahlungsrichtung bestimmt wird. Bei positiver Phototaxis bewegt sich der Organismus auf die Lichtquelle zu, bei negativer Phototaxis von ihr weg. Die Topo-Phototaxis wird im Alltag auch einfach als Phototaxis bezeichnet.

Die Sensitivität der Phototaxis ist in der Regel abhängig von der Wellenlänge des Lichts. Dies kann an Hand eines sog. *Aktionsspektrums* gezeigt werden (Abb. 8). Ein Aktionsspektrum gibt die Abhängigkeit der Reaktion von der verwendeten Wellenlänge an. *C. reinhardtii* kann auf Licht im Bereich von 400 bis 600 nm phototaktisch reagieren, wobei das Maximum bei ca. 500 nm liegt.

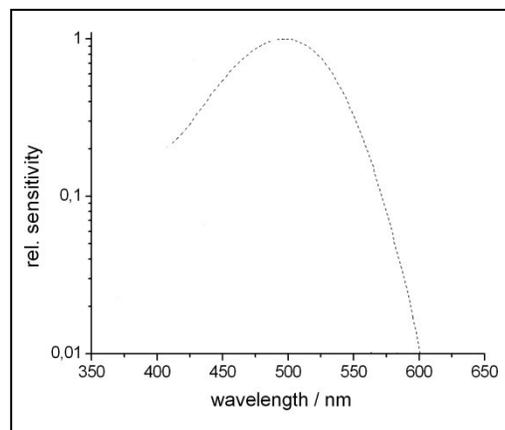
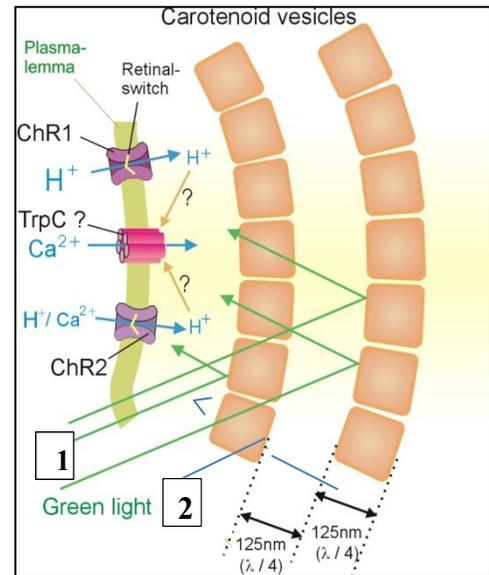


Abb.8 Aktionsspektrum eines Rhodopsins.

## 2.3 Photorezeptor-Proteine in *C. reinhardtii*

Zwei membranständige Photorezeptorproteine *Channelrhodopsin 1* (ChR1) und *Channelrhodopsin 2* (ChR2) wurden als lichtgesteuerte Ionenkanäle identifiziert, die als Chromophor Retinal enthalten. Nähere Untersuchungen haben gezeigt, dass ChR1 und ChR2 Protonen und Calcium leiten. Wodurch es zu einem Anstieg der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in der Zelle kommt und in dessen Folge die phototaktische bzw. photophobische Reaktion ausgelöst wird. Abbildung 9 zeigt ein Modell der Photorezeption am Augenfleck von *Chlamydomonas reinhardtii*.



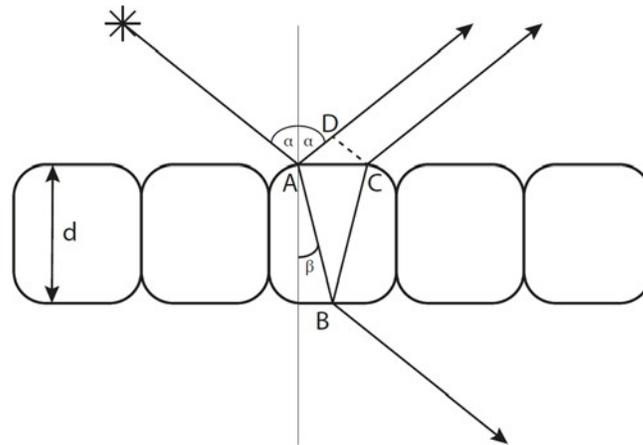
**Abb. 9a Modell der Photorezeption in *Chlamydomonas reinhardtii*.**

1. An beiden Grenzflächen der Carotenoid-Vesikel wird das Licht reflektiert. Einmal zu Beginn des Eintritts in die Vesikel (1) und etwas später auf der Gegenseite (2). Eine Laufzeitdifferenz führt zu einer Phasenverzögerung des an der zweiten Grenzfläche reflektierten Licht-Strahls gegenüber dem ersten. Diese Phasenverzögerung ist von der Schichtdicke abhängig. Hier sind es 250nm (125nm für den Hin- und 125nm für den Rückweg). Das heißt, es findet eine Phasenverschiebung von 250nm statt. Bei senkrechtem Lichteinfall.

2. Bei der Reflexion des 1. Strahls an der Vorderseite des Vesikels, wo eine Grenzfläche zwischen optisch dünn (außen) und optisch dichter (innen) vorliegt, kommt es zu der Phasenumkehr von  $\lambda/2$ . Bei der Reflexion des 2. Strahls nicht.

Bei einer Phasenumkehr werden positive Werte zu negativen und negative zu positiven, wobei die Phase (Laufzeit) nicht verschoben wird.

3. Beide Lichtstrahlen verstärken sich nun durch konstruktive Interferenz bei 500nm. Bei mehreren Schichten kommt es zu einer weiteren Verstärkung bei dieser Wellenlänge. Auf die Photorezeptoren, die gegenüber der Carotenoid-Granula liegen, treffen somit ein viel Faches mehr Photonen grüner Wellenlänge als von denen anderer Wellenlängen auf. So kann selbst bei geringsten Lichtintensitäten die Alge auf das grüne Licht noch reagieren.



**Abb. 9b Modell der Photorezeption in *Chlamydomonas reinhardtii* Reflektion.**  
d Schichtdicke des Vesikels.

Bei nichtsenkrechtem Lichteinfall bezogen auf die Achse der Bewegungsrichtung der Alge, berechnet sich der Wert der Phasenverzögerung=geometrische Wegdifferenz wie folgt:

$$AB+BC-AD$$

#### Literatur:

Hegemann, Peter; Harz, Hartmann, (1998). How microalgae see the light.

Caddick, M. X., Baumberg, S., Hodgson, D. A., Phillips-Jones, M. K. Symposium of the Society for General Microbiology; Microbial Responses to Light and Time. 95-105

Foster, K.W.& Smyth, R.D., (1980). Light antennas in photo tactic algae. Microbiological Review, 44, 572-630

Vogel H., Gerthsen Physik, 20. Auflage, Springer (1999).

### 3. Praktischer Teil

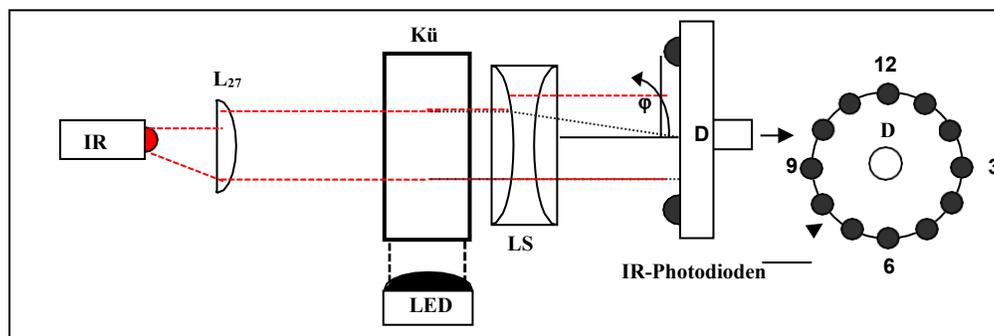
#### 3.1 Der Versuchsaufbau

In diesem Versuch soll mit Hilfe einer Lichtstreu-Apparatur (Abb. 10) das phototaktische Verhalten von *Chlamydomonas reinhardtii* Zellen untersucht werden.

#### Funktionsweise des Lichtstreu-Apparates:

Ein IR-Emitter (IR) sendet infrarotes Licht ( $\lambda = 850\text{nm}$ ) aus, das nach Parallelisierung durch  $L_{27}$  ( $f = 27\text{ mm}$ ) und Durchtritt durch die Küvette (Kü) mittels eines Zwei-Linsensystems (LS) auf die Mitte des Detektorringes fokussiert wird. Befindet sich in der Küvette (Kü) eine verdünnte Algensuspension, tritt Lichtstreuung an den Algenzellen auf, wobei die maximale Streulichtintensität bei einem Streuwinkel  $\varphi = 16^\circ$  erreicht wird. Die IR-Dioden als Detektoren sind deshalb ringförmig in einem festen Winkel  $\varphi = 16^\circ$  angeordnet. Die IR-Dioden erzeugen einen Strom in Abhängigkeit der eintreffenden Streulichtintensität. Dieser kann nach Strom-Spannungswandlung über ein „Messinterface“ mit dem Computer aufgezeichnet werden.

Als Reizlichtquelle für die Algen dienen in diesem Versuch Hochleistungs-LED's (LED = light emitting diode) mit verschiedenen Wellenlängen (455nm, 505nm, 530nm), die über das Messprogramm angesteuert werden können.



**Abbildung 10. Schematischer Aufbau des Lichtstreu-Apparates.** IR: Infrarot-Emitter  $\lambda = 850\text{nm}$ ,  $L_{27}$ : Sammellinse mit  $f = 27\text{ mm}$ , Kü: Küvette, LS: Linsensystem aus zwei Sammellinsen mit je  $80\text{ mm}$  Brennweite im Abstand von  $2,5\text{ cm}$  ( $f_{\text{gesamt}} = 35\text{ mm}$ ), D: Detektorring mit 12 IR-Photodioden, LED: Reizlichtquelle (light emitting diode).

### 3.2. Prinzip der Lichtstreu-Messung an den Algenzellen

Befindet sich in der Küvette eine Algensuspension, so wird das IR-Licht auf die einzelnen Dioden gestreut. Da die Algenzellen ohne Reizlicht statistisch orientiert sind, kann keine signifikante Änderung des Lichtstreusignals bzw. der Spannung im Zeitverlauf detektiert werden. Sobald nun das Reizlicht eingeschaltet wird, richten sich die Zellen in diesem Licht aus. Durch diese Orientierungsänderung fällt nun entweder mehr (Spannungsanstieg) oder weniger (Spannungsabfall) IR-Licht auf die einzelnen IR-Dioden. Sobald sich alle Zellen ausgerichtet haben geht die Spannungsänderung wieder auf null. Abbildung 11 zeigt ein typisches Lichtstreusignal (rote Kurve) eines Experiments.

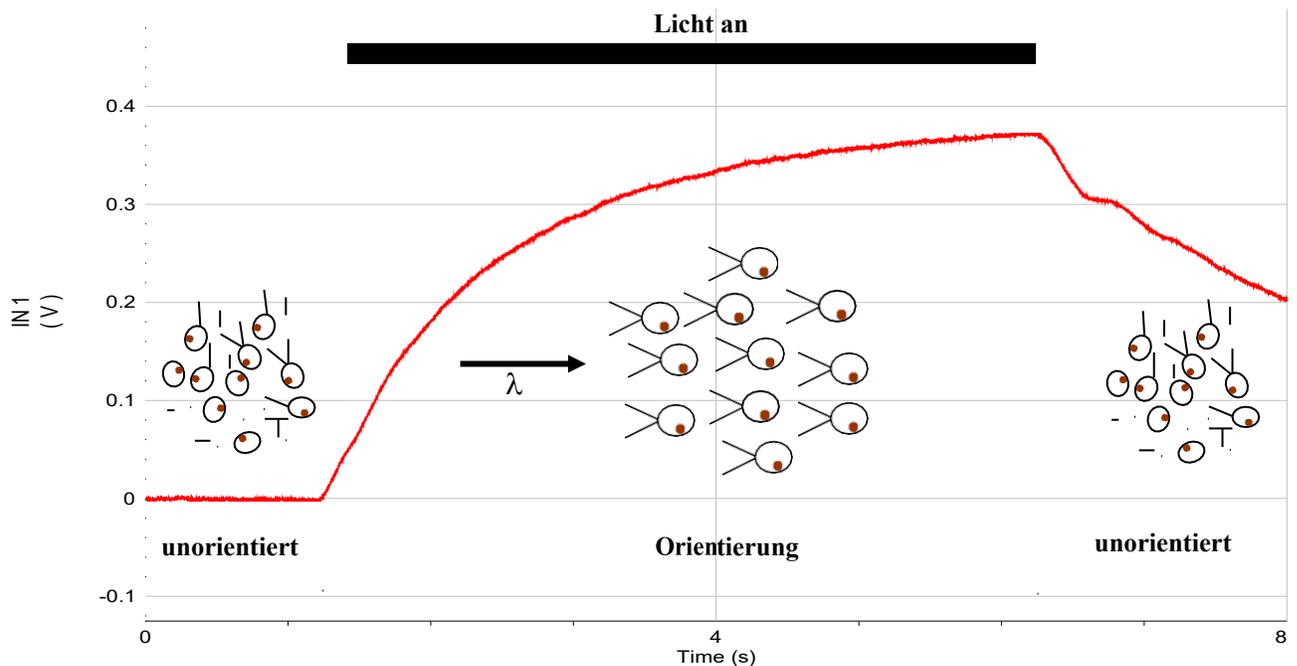


Abb. 11 Lichtstreusignal einer *C. reinhardtii*-Suspension

### 3.3. Versuchsdurchführung

- Jede Gruppe erhält einen Erlenmeyerkolben mit einer *C. reinhardtii*-Suspension. Die Zelldichte wird nun mit einem Photometer bestimmt und durch Verdünnung der Suspension auf  $1 \cdot 10^5$  Zellen/ml (0,1 OD) eingestellt.
- Die Kolben müssen während der gesamten Zeit auf den bereitstehenden Schüttlern bei **ca. 120 rpm geschüttelt werden**, damit sich die Zellen nicht absetzen.
- An jedem Messplatz liegen Neutralglasfilter bereit, mit denen die Lichtintensität schrittweise erhöht werden kann. Die Filter haben folgende Transmissionswerte:

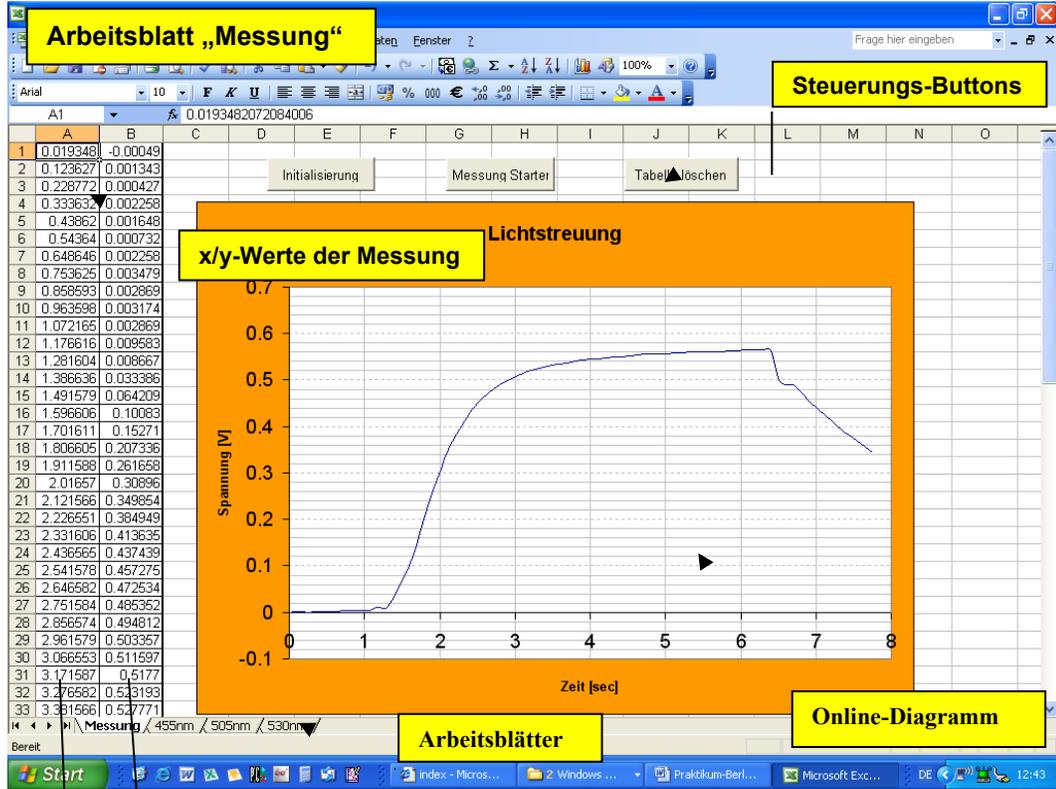
0.1% - 0.25% - 0,5% - 1% - 2,5% - 5% - 10% - 25% - 50%

- Vor der Messung muss das Messprogramm einmalig initialisiert (Button „Initialisierung“), die richtige LED in Position gedreht und am Drehschalter eingeschaltet werden.
- Jede Gruppe führt die Messungen bei allen vier Wellenlängen durch

#### Die Messung erfolgt in folgenden Schritten:

1. Küvette fast ganz voll mit Algensuspension befüllen  
(Darauf achten, dass keine Wassertropfen an der Außenseite herunterlaufen!)
2. Küvette in den Halter stellen
3. Neutralgasfilter einlegen und Deckel schließen
4. Messprogramm starten (Button „Messung-Starten“)
5. Messwerte in das entsprechende Arbeitsblatt kopieren (Wellenlänge)
6. Algensuspension aus Küvette zurück in Erlenmeyerkolben gießen

Die Schritte 1 bis 6 so oft wiederholen, bis alle Lichtintensitäten gemessen sind.



**Arbeitsblatt „450nm“**

**Transmission**

x-Werte	y-Werte									
	0.1%	0.25%	0.5%	1%	2.5%	5%	10%	25%	50%	100%
Zeit (sec)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)	U (V)
0.019348	0.0006621	0.00042725								
0.123627	6.1035E-05	0.0010376								
0.228772	0.00097656	0.00012207								
0.333633	-0.0002441	0.00042725								
0.43862	-0.0008545	0.0010376								
0.54364	-0.0005493	0.00195313								
0.648646	-0.0008545	0.0010376								
0.753625	6.1035E-05	0.00195313								
0.858593	-0.0005493	0.00195313								
0.963598	0.00097656	0.00195313								
1.072165	-0.0008545	0.0022583								
1.176616	-0.0005493	0.00195313								
1.281604	0.00097656	0.00256348								
1.386636	0.00189209	0.00408936								
1.491579	0.00311279	0.00531006								
1.596606	0.00311279	0.00469971								
1.701611	0.00219727	0.00653076								
1.806605	0.00402832	0.00744629								
1.911588	0.00402832	0.01019287								
2.01657	0.00524902	0.00897217								
2.121566	0.00585938	0.01049805								
2.226551	0.00616455	0.0123291								
2.331606	0.00646973	0.0123291								
2.436565	0.00708008	0.0123291								
2.541578	0.00921631	0.01324463								
2.646582	0.00830078	0.01507568								
2.751584	0.00952148	0.01629639								
2.856574	0.00921631	0.01588604								
2.961579	0.01013184	0.01629639								
3.066553	0.00952148	0.01721191								

### 3.4. Auswertung

#### 3.4.1. Bestimmung der Lichtintensität der LEDs

Als erstes müssen Sie die Lichtintensitäten der LEDs bestimmen. Die gemessenen Leistungswerte der einzelnen LEDs haben die Einheit  $\mu\text{W}$  ( $1\text{W} = 1\text{J/s}$ ).

Wellenlänge#	P Diode ( $\mu\text{W}/\text{m}^2$ )	$E_{\text{Photon}}$ (Einheit?)	P Diode ( $\text{J}/\text{s}\cdot\text{m}^2$ )	Anzahl der Photonen/ $\text{m}^2\cdot\text{s}$
455 nm				
470nm				
505 nm				
530 nm				

! Bitte notieren Sie sich die tatsächlich in ihrem Versuchsaufbau verwendeten Wellenlängen, da die Dioden variieren!

Diese Werte müssen nun in Anzahl der Photonen/ $\text{m}^2\cdot\text{s}$  umgerechnet werden.

Dazu müssen Sie zunächst die Energie eines Photons der entsprechenden Wellenlänge nach der folgenden Formel berechnen:

$$E_{\text{Photon}} = h \cdot f = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

$h = 6,625 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$  (Planck'sches Wirkungsquantum)

$c = 2,998 \cdot 10^8 \text{ m/s}$

$\lambda = \text{Wellenlänge in m!}$  (Umrechnen!!!)

Anschließend können sie die Anzahl der Photonen/ $\text{m}^2\text{s}$  berechnen.

Zum Schluss müssen Sie noch die einzelnen Lichtintensitäten der Lichttitration an Hand der Transmissionswerte der Graufilter berechnen.

### 3.4.2 Ziel ist die Erstellung eines Aktionsspektrums

Im ersten Schritt werden die Lichtstreu Kurven der einzelnen Messungen in einer Grafik (Abb.1 A-D) zusammengefasst. Anschließend müssen die Steigungen (Messeinheit V/s) der einzelnen Lichtstreu Kurven im linearen Anstiegsbereich ermittelt und in einem zweiten Diagramm (Abb. 2) gegen die Lichtintensität (**Photonen/m<sup>2</sup>s!!!**) aufgetragen werden. Dabei muss für die x-Achse eine logarithmische Skalierung verwendet werden! Auf diese Weise erhält man eine Lichttitrationskurve (Dosis-Effekt-Kurve).

Die Lichttitrationskurven werden im linearen Bereich gegen Null extrapoliert. Dabei entspricht der Schnittpunkt mit der x-Achse ( $y=0$ ) der Sensitivität. Dieser Wert entspricht der minimal notwendigen Anzahl der Photonen, um eine Reaktion bei den Algen hervorzurufen. Werden diese 4 Werte in einer weiteren Grafik (Abb. 3) gegen die Wellenlängen aufgetragen, erhält man das Aktionsspektrum: Sensitivität in [Photonen/m<sup>2</sup>s] gegen die Wellenlänge in [nm].

### 3.4.3. Inhalt des Protokolls

- Einleitung
  - Thematische Einführung
  - Versuchsziel/Formulierung einer These
  - Versuchsdurchführung - kurze Beschreibung des Versuches, ohne wörtliche Wiederholung aus dem Skript
- Ergebnisse:
  - Für jede Wellenlänge eine Grafik mit allen 10 Streulichtmessungen erstellen 4 Lichtstreu Kurven (Abb. 1 A-D).
  - Die Skalierung der Achsen soll so gewählt sein, dass die Grafiken vergleichbar sind (Gleiche Maßeinheiten). Die Überschriften der Grafiken und die Beschriftung der Achsen nicht vergessen.
  - 1 Grafik für die Lichttitrationskurven (Abb. 2, Dosis-Effekt-Kurven), in der alle 4 Wellenlängen dargestellt werden und tabellarische Auflistung der ermittelten Sensitivitäten für die 4 Wellenlängen
  - 1 Aktionsspektrum

- Diskussion
  - Charakterisieren Sie die erhaltenen Lichttitrationskurven (Dosis- Effekt-Kurven) und das Aktionsspektrum.
  - Vergleichen Sie Ihr Aktionsspektrum mit dem aus der Literatur bekannten und diskutieren Sie die Photosensitivität der Algen.
  - Fehlerbetrachtung.

#### 4. Bewertungsschlüssel

### Biophysik Grundpraktikum, Versuch 2: Photosensitivität von Grünalgen

Name	<u>Testat</u>	<u>Versuchsdurchführung</u>				<u>Protokoll</u>		
	<i>10 Fragen</i>	<i>Ordnung</i>	<i>Aktive Mitarbeit</i>	<i>Verständnis</i>	<i>Zwischenergebnisse</i>	<i>Einleitung</i>	<i>Ergebnisse</i>	<i>Diskussion</i>
<b>Punktzahl Gesamt:15</b>	<b>5</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1,5</b>	<b>2</b>	<b>1,5</b>