

クロロフィル定量法

【試薬】

- ① 90%アセトン： 900mL-アセトン / 1000mL D. W.
 ② 希塩酸： 50mL-濃塩酸 + 100mL D. W.

【操作】

試水0.5L～5Lをワットマン社製グラスファイバーフィルター(GF/F)で吸引濾過し、ろ紙を冷凍保存する（クロロフィルaとして5～10 μ g-chl. a/L程度）。

ろ紙を90% N,N-ジメチルホルムアミド（または、アセトンかエタノール）を加えながら乳鉢ですりつぶし、全量を15mL程度にして遠沈管に入れ、上澄み液から濁りがなくなるまで遠心分離する（簡易的に抽出のみで行う方法あり）。

上澄み液を1～5cm長の分光光度計用のセルに入れ、630nm, 645nm, 663nm, 665nm, 750nmの波長にて吸光度を測定する（クロロフィル測定のため）。

さらに、希塩酸を上澄み液5mL当り1滴の割合で加え、665nm, 750nmの波長にて吸光度を測定する（フェオフィチン測定のため）。

【算出方法】

$$\text{クロロフィルa } (\mu\text{g/l}) = (11.64E_{663} - 2.16E_{645} + 0.10E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$$

$$\text{クロロフィルb } (\mu\text{g/l}) = (-3.94E_{663} + 20.97E_{645} - 3.66E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$$

$$\text{クロロフィルc } (\mu\text{g/l}) = (-5.53E_{663} - 14.81E_{645} + 54.22E_{630}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$$

以上、 S_{COR} / UNESCO 法

$$\text{クロロフィルa}^* (\mu\text{g/l}) = 26.7(E_{665} - E_{665a}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$$

$$\text{フェオフィチンa}^* (\mu\text{g/l}) = 26.7(1.7E_{665a} - E_{665}) \cdot v \cdot V^{-1} \cdot l^{-1}$$

以上、Lorenzen 法

E はその波長での吸光度から750nmの波長での吸光度を差引いたもの。また、 E_{665a} は、希塩酸を加え同様にしたもの。 v は上澄み液の体積 (mL)、 V は試水の濾過量 (l)、 l は分光光度計のセルの長さ (cm)

【文献】

S_{COR} / UNESCO (1966) : Determination of photosynthetic pigments in sea water.

IN Monographs on oceanographic methodology, UNESCO publications center, New York, 69pp.

Lorenzen, C. J. (1968) : Carbon / chlorophyll relationships in an upwelling area.

Limnol. Oceanogr., 13, 202-204.