

PENGARUH PEMANASAN TERHADAP STABILITAS BAKTERIOKLOROFIL *a* DALAM EKSTRAK KASAR PIGMEN *Rps. Palustris*

Wahyu Wijaya^{1,2*}, Heriyanto³, Monika Nur Utami^{1,2}, Renny Indrawati^{1,3}, Budhi Prasetyo^{1,4}, Leenawaty Limantara^{2,3**}

¹Program Pascasarjana Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana, Diponegoro 52-60, Salatiga 50711

²Workstation of Mochtar Riady Institute for Nanotechnology, Boulevard Jend. Sudirman 1688, Lippo Karawaci, Tangerang 15811, Jakarta

³Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Villa Puncak Tidar N-1, Malang 65151

⁴Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Kristen Satya Wacana, Diponegoro 52-60, Salatiga 50711

Email : *wahyuwijaya22@gmail.com; **leenawaty.limantara@machung.ac.id

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh pemanasan terhadap stabilitas bakterioklorofil *a* dalam ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* yang diekstrak dengan 2 jenis pelarut berbeda, yaitu 100% aseton dan 100% metanol. Ekstrak kasar pigmen dengan absorbansi pita Q_y bakterioklorofil *a* mendekati 1 dipanaskan pada suhu 65 °C, yang merupakan suhu pasteurisasi bertemperatur rendah dalam waktu lama untuk aplikasi pigmen dalam proses pengolahan, sedangkan suhu 25 °C digunakan sebagai kontrol perlakuan dan menguji kestabilan pigmen terhadap lama penyimpanan. Ekstrak kasar pigmen dipanaskan selama 4 hari dan pola spektra tiap ekstrak kasar pigmen dianalisa tiap 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, dan 96 jam untuk mengetahui persentase degradasi bakterioklorofil *a*. Kromatogram KCKT digunakan untuk mengkonfirmasi perbandingan penurunan intensitas puncak bakterioklorofil *a* di dalam ekstrak kasar pigmen yang diekstrak menggunakan pelarut aseton maupun metanol.

Kata kunci : pemanasan, bakterioklorofil *a*, *Rps. palustris*.

PENDAHULUAN

Sejak awal peradaban dan dimulainya industri pangan, pewarna baik alami maupun sintetik telah banyak diaplikasikan untuk memberikan nilai estetika, persepsi dan meningkatkan kualitas sensoris makanan. Pigmen alami sekarang mulai banyak digunakan untuk menggantikan peran pewarna sintetik, dikarenakan tingkat keamanan pangan yang tinggi, lebih ramah lingkungan, dan memiliki efek fungsional terhadap kesehatan manusia (Pratheesh dkk., 2002). Pigmen alami dapat ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi maupun tingkat rendah, hingga mikroorganisme. Produksi pigmen melalui kultivasi mikroorganisme memberikan hasil yang optimum dalam waktu singkat dikarenakan pertumbuhan dan perkembangbiakan yang cepat dari mikroorganisme (Chattopadhyay dkk. 2008).

Rps. palustris merupakan bakteri fotosintetik dengan sel berbentuk batang, serta bereproduksi dengan cara membentuk tunas. Bakteri ini mampu tumbuh dengan baik melalui berbagai jalur metabolisme seperti fotoautotrof, fotoheterotrof, kemoautotrof, maupun kemoheterotrof (Larimer dkk., 2004 dalam Fejes, 2004). Pigmen klorofil dominan pada *Rps. palustris* adalah bakterioklorofil yang mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 770 nm dan bersifat rentan terhadap cahaya (Brandis, dkk., 2006; Fajer, dkk., 1974). Karotenoid juga dilaporkan memberi efek perlindungan dari kondisi stres terhadap panas dan cahaya berlebih pada kompartemen fotosintetik sianobakteria (Varkonyi dkk., 2002).

Belum diketahui bagaimana stabilitas pigmen bakterioklorofil *a* di dalam ekstrak kasar pigmen terhadap proses pemanasan. Ekstraksi dengan pelarut organik tertentu diduga akan mempengaruhi jumlah dan komposisi pigmen yang dihasilkan (Holm-Hansen dan Riemann, 1978; Porra, R. J., 1989). Respon bakterioklorofil *a* terhadap panas akan berbeda antara ekstrak kasar pigmen yang mengandung banyak karotenoid dengan yang hanya mengandung sedikit karotenoid. Hal ini berkaitan dengan mekanisme karotenoid dalam memberikan efek perlindungan dari kondisi stres terhadap panas dan cahaya (Varkonyi *dkk.*, 2002). Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan respon bakterioklorofil *a* dalam ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* yang diekstrak dengan 2 jenis pelarut berbeda yaitu aseton dan metanol terhadap proses pemanasan. Hasil penelitian ini akan digunakan sebagai informasi awal untuk aplikasi pigmen alami dari bakteri terhadap kondisi pengolahan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Pelarut Kimia

Bahan dan pelarut kimia yang digunakan adalah media C-suksinat, larutan buffer tris-HCL, CaCO₃, asam askorbat, aseton, metanol, dietil eter, petroleum eter, asetonitril, diklorometan, dan gas argon.

Kultivasi Rps. palustris

Kultur bakteri fotosintetik yang digunakan adalah *Rps. palustris* yang diperoleh dari *University of Glasgow*, Inggris. Kultur *Rps. palustris* dalam agar tegak ditambahkan dengan 10 mL media cair steril C-suksinat, kemudian diinkubasi 12 jam dalam gelap dan 2 hari (suhu 30 °C) dalam terang. Setelah diinkubasi kultur tersebut ditransfer ke botol dengan volume yang lebih besar, transfer dan kultivasi kultur dalam gelap dan terang dilakukan sebanyak 3 kali sebelum perlakuan.

Ekstraksi Pigmen

Kultur *Rps. palustris* berusia 4 hari disentrifugasi (4 °C, 8000 rpm, 10 menit) untuk mendapatkan biomassa sel bakteri. Biomassa sel yang telah disentrifugasi, dibilas dan disentrifugasi kembali sebanyak 2 kali dengan larutan buffer tris-HCL. Sebanyak 1 gram biomassa ditimbang kemudian diekstraksi dengan 20 mL 100% aseton maupun 100% metanol, dengan ditambahkan CaCO₃ untuk menyeimbangkan tingkat keasaman, serta sodium L-askorbat sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi pigmen. Ekstraksi dilakukan dengan perlakuan sonikasi (amplitude=30, 10 menit) yang bertujuan memecah dinding sel bakteri sehingga pigmen lebih mudah terekstrak. Ekstrak hasil sonikasi diendapkan dan difiltrasi, sedangkan sisa pellet diekstraksi kembali dengan pelarut yang sama dan diaduk dengan pengaduk magnetik (250 rpm, 10 menit), kemudian difiltrasi kembali. Ekstrak kasar pigmen yang dihasilkan diuapkan pelarutnya dengan alat penguap vakum berputar, maupun dengan gas argon sampai diperoleh ekstrak kasar pigmen kering untuk dianalisis.

Pemanasan Ekstrak Kasar Pigmen Rps. palustris

Ekstrak kasar pigmen kering hasil ekstraksi dengan pelarut aseton dan metanol kemudian dilarutkan kembali dengan 100% aseton dan diatur absorbansi 1 tepat di Q_y bakterioklorofil. Ekstrak kasar pigmen kemudian diambil sebanyak 10 mL untuk tiap tabung reaksi. Tabung reaksi berisi ekstrak kasar pigmen dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 65 °C dan diamati pola spektranya dengan spektrofotometer UV-tampak pada kurun waktu 0, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72 dan 96 jam. Hal yang sama juga diamati pada ekstrak kasar pigmen yang disimpan pada suhu 25 °C. Perlakuan pemanasan selama 12 jam, 48 jam dan 96 jam ekstrak kasar pigmen diambil untuk dianalisa dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.

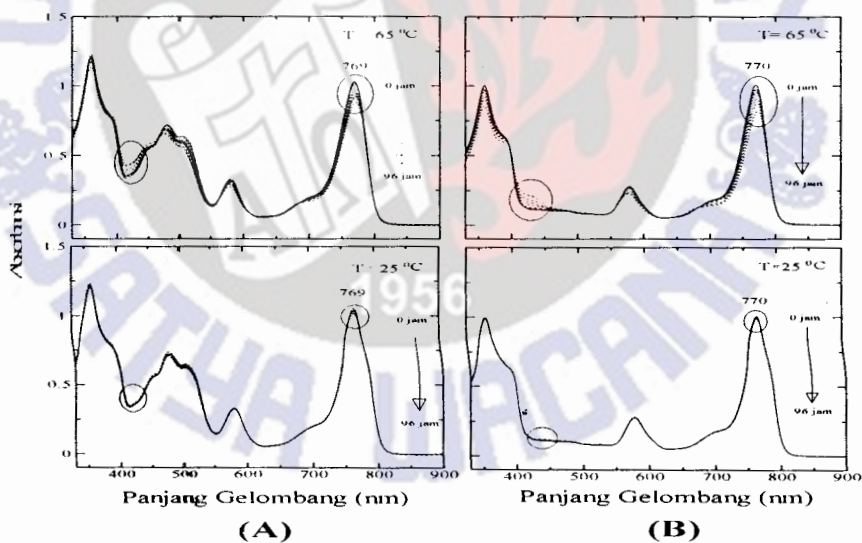
Analisis Spektrofotometer UV-Tampak, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dan Analisa Data

Ekstrak kasar pigmen ditentukan pola spektranya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-tampak 1700 (Shimadzu, Kyoto) dengan 100% aseton sebagai blanko. Kromatogram diperoleh melalui analisis dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (Shimadzu, Kyoto) yang dilengkapi dengan detektor *Photo Diode Array* (PDA). Kolom yang digunakan adalah kolom fase terbalik *Shim Pack VP-ODS C18*, pigmen dielusi dalam kolom tersebut berdasarkan metode Nelis dan De Leenheer (1989) yang telah dimodifikasi. Data yang dihasilkan dianalisis serta digambarkan dengan bantuan perangkat lunak Plot32 (dibuat oleh A. Ikehata, *Kwansei Gakuin University*, Jepang).

HASIL DAN DISKUSI

Pola Spektra Ekstrak Kasar Pigmen dari Rps. Palustris.

Jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi akan menentukan respon pigmen bakterioklorofil *a* dalam ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* terhadap proses pemanasan. **Gambar 1** menunjukkan bahwa penggunaan 2 pelarut yang berbeda polaritasnya akan menyebabkan terbentuknya pola spektra pigmen yang berbeda, ekstraksi pigmen dengan 100% aseton akan menyebabkan kelompok karotenoid lebih banyak terekstrak dibanding dengan menggunakan pelarut 100% metanol. **Pada gambar 1B** menunjukkan intensitas serapan karotenoid pada interval panjang gelombang (λ)=450-540 nm dengan pelarut metanol lebih rendah dibanding ekstraksi pigmen dengan pelarut aseton. Berdasarkan penelitian Herak *et al.* (2002), karotenoid pada antenna pemanen cahaya *Rps. acidophila* tidak dapat diekstraksi dengan baik seiring dengan meningkatnya rasio metanol. Hal ini terkait dengan tingkat polaritas pelarut, metanol memiliki tingkat kepolaran yang lebih tinggi daripada aseton. Golongan karotenoid pada *Rps. palustris* akan lebih banyak terekstrak dengan pelarut aseton.



Gambar 1. Pola spektra ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* yang diekstraksi dengan aseton (A) atau metanol (B), pada perlakuan suhu 65 °C (atas) dan 25 °C (bawah). Gambar lingkaran menunjukkan penurunan intensitas di pita Q_y bakterioklorofil *a* dan kenaikan intensitas pada $\lambda=400-450$ nm.

Sebelum diperlakukan pada suhu 65 °C maupun 25 °C, intensitas pita Q_y bakterioklorofil *a* diatur hingga absorbansi mendekati 1 (Q_y bakterioklorofil *a* \approx 1) pada $\lambda=770$ nm. Dari **gambar 1** dapat diamati bahwa terjadi penurunan intensitas pita Q_y bakterioklorofil *a* ($\lambda=770$ nm) pada perlakuan pemanasan suhu 65 °C selama kurun waktu 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, dan 96 jam. Pada ekstrak kasar pigmen yang disimpan pada suhu 25 °C cenderung lebih stabil sebab memiliki pola spektra yang hampir sama dengan pola spektra sebelum perlakuan. Pada daerah pita Q_y bakterioklorofil *a* ($\lambda=770$ nm) mengalami penurunan akibat pemanasan pada suhu 65 °C,

sedangkan pada daerah sorot bakterioklorofil ($\lambda=400-450$ nm) mengalami peningkatan intensitas. Hal ini mengindikasikan timbulnya serapan baru dari produk degradasi bakterioklorofil *a*. Produk degradasi ini merupakan turunan bakterioklorofil *a* yang terbentuk akibat pemanasan (Fajer, dkk., 1974). Konfirmasi lebih lanjut mengenai produk degradasi bakterioklorofil *a* dilakukan melalui analisis KCKT.

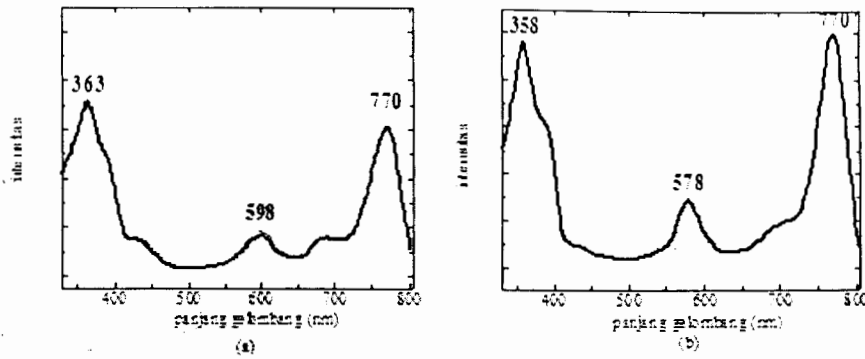
Tabel 1. Perbandingan persentase penurunan absorbansi pada pita Q_y bakterioklorofil *a* dari hasil pemanasan ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* pada suhu 65°C .

Lama Pemanasan (Jam)	% degradasi Pada O_y Bchl ($T = 65^\circ\text{C}$)	
	100 % Aseton	100% Metanol
0	0	0
2	0,77	0
4	1,55	0,40
6	1,94	2,68
12	6,49	3,77
24	8,42	5,65
48	10,26	10,21
72	11,52	13,28
96	14,62	18,83

Tabel 1 menunjukkan presentase degradasi bakterioklorofil *a* *Rps. palustris* yang diekstrak dengan pelarut aseton maupun metanol pada suhu 65°C . Respon berbeda terhadap perlakuan pemanasan ditunjukkan oleh pigmen yang diekstrak dengan aseton maupun dengan metanol. Setelah 96 jam pemanasan, pigmen yang diekstrak dengan pelarut metanol mengalami persentase degradasi yang lebih banyak pada Q_y bakterioklorofil yaitu sebesar 18,83% dibanding pigmen yang diekstraksi dengan aseton yaitu sebesar 14,62%. Pada ekstraksi pigmen menggunakan pelarut aseton, kelompok karotenoid akan terekstrak lebih banyak sehingga memberikan efek proteksi yang lebih. Pigmen yang diekstrak dengan pelarut aseton menunjukkan warna kuning kecoklatan, menandakan karotenoid lebih banyak terekstrak dalam pelarut aseton, sedangkan pigmen yang diekstrak dengan pelarut metanol memiliki warna kebiruan yang menandakan sedikit karotenoid yang terekstrak. Dilaporkan oleh Varkonyi (2002), bahwa karotenoid dapat melindungi dari kerusakan akibat panas yang dihasilkan dari aktivitas proses fotosintesis yang tinggi pada kompartemen fotosintetik sianobakteria.

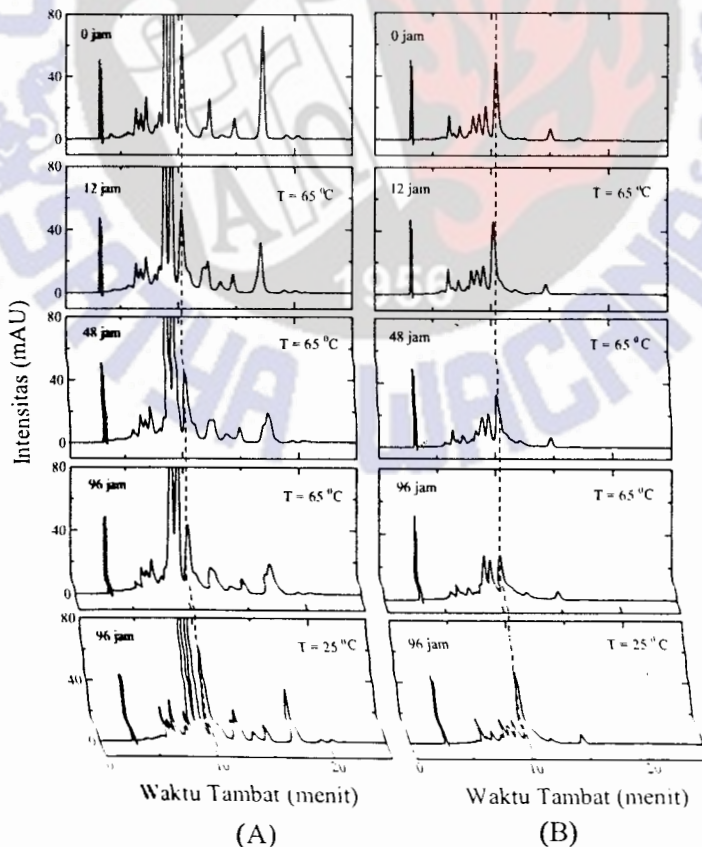
Identifikasi Bakterioklorofil a dalam Ekstrak Kasar Pigmen Rps. Palustris dengan KCKT.

Konfirmasi penurunan intensitas bakterioklorofil *a* dilakukan dengan analisa KCKT. Kromatogram KCKT ditampilkan dalam hubungan antara intensitas dan waktu tambat pada $\lambda=430$ nm (**gambar 3**) Identifikasi puncak utama bakterioklorofil *a* dari kromatogram KCKT dilakukan berdasarkan serapan maksimum pola spektra serta waktu tambatnya. Adapun waktu tambat bakterioklorofil *a* pada kromatogram KCKT adalah pada menit ke-10,26, sedangkan pola spektra bakterioklorofil *a* standar dalam pelarut aseton nm dapat dilihat pada **gambar 2** (Grimm dkk., 2006). Perbedaan serapan antara pola spektra bakterioklorofil *a* dalam ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* pada waktu tambat menit ke-10,26 dan pola spektra bakterioklorofil *a* standar dalam aseton dikarenakan perbedaan pelarut yang digunakan.

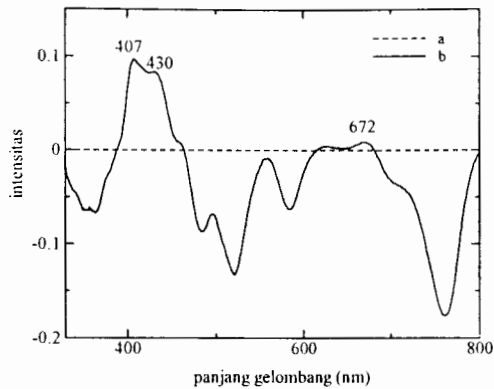


Gambar 2. Pola spektra bakterioklorofil *a* dari ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* pada waktu tambat menit ke-10,26 (a) dan bakterioklorofil *a* standar dalam aseton (b).

Gambar 3A menunjukkan profil kromatogram KCKT ekstrak pigmen dengan pelarut 100% aseton, sedangkan gambar 3B menunjukkan profil kromatogram KCKT ekstrak pigmen dengan pelarut 100% metanol, baik pada keduanya menunjukkan adanya penurunan intensitas pada puncak utama bakterioklorofil *a* pada waktu tambat menit ke-10,26. Pada perlakuan suhu 25 °C baik pada ekstrak pigmen dengan aseton maupun metanol, intensitas bakterioklorofil *a* cenderung mengalami penurunan yang tidak signifikan. Namun pada perlakuan pemanasan suhu 65 °C, penurunan intensitas bakterioklorofil *a* yang diwakili oleh penurunan tinggi puncak cenderung lebih besar pada pigmen yang diekstrak dengan 100% metanol (22863) dibanding pigmen yang diekstrak dengan 100% aseton (18573). Sesuai pembahasan pada pola spektra, ekstrak kasar pigmen dengan pelarut metanol memiliki lebih sedikit karotenoid selain itu komposisi pigmen yang terekstrak jauh lebih sedikit daripada ekstrak pigmen dengan pelarut aseton sehingga kerusakannya akan jauh lebih besar.

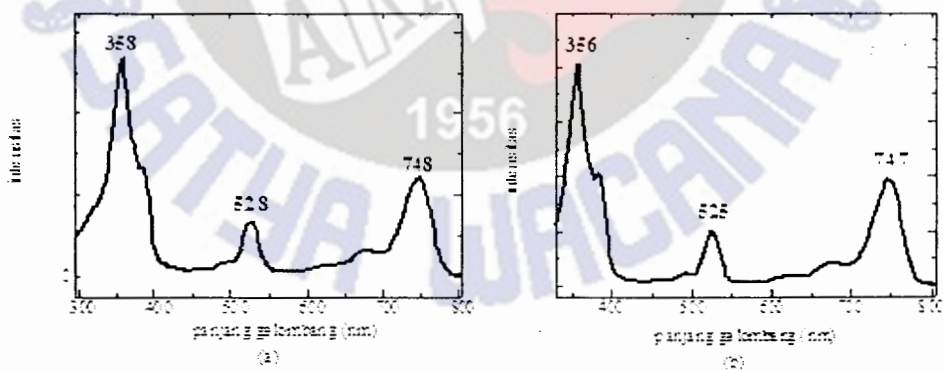


Gambar 3. Kromatogram KCKT ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* yang diekstraksi dengan aseton (A) atau metanol (B), pada perlakuan pada suhu 65 °C dan suhu 25 °C. Deteksi pada $\lambda=450$ nm. Garis putus-putus menunjukkan penurunan intensitas pada puncak bakterioklorofil *a*.



Gambar 4. Hasil perbedaan spektra serapan antara ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* 100% aseton pemanasan suhu 65°C selama 96 jam (a) dengan ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* 100% aseton sebelum perlakuan (b).

Selain terjadinya penurunan intensitas pada puncak utama bakterioklorofil *a* tersebut, kehadiran pigmen produk degradasi yang memiliki waktu tambat yang berdekatan dengan bakterioklorofil *a* menyebabkan penumpukan puncak seiring dengan lamanya pemanasan. Puncak baru yang muncul dan bertumpuk tersebut diindikasikan adalah produk degradasi dari bakterioklorofil *a* (Limantara, dkk., 2006). Penumpukan puncak antara bakterioklorofil *a* dan produk degradasinya menyebabkan pola spektra produk degradasi tersebut sulit untuk diidentifikasi dari data 3 dimensi KCKT. Produk degradasi tersebut diidentifikasi berdasarkan serapan baru yang muncul dari hasil perbedaan spektra serapan pada **gambar 4**. Produk degradasi dari bakterioklorofil *a* ini memiliki serapan di 407, 430, dan 672 nm yang diindikasikan adalah bakterioklorin *a*. Produk degradasi lain yang merupakan turunan bakterioklorofil *a* muncul pada waktu tambat ke-19,32 adalah bakteriofeofitin *a* yang memiliki puncak 358, 528, 748 nm. (Fajer, dkk., 1974). **Gambar 5** berikut menunjukkan pola spektra dan serapan maksimum puncak bakteriofeofitin *a* pada waktu tambat menit ke-19,32 dari ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* yang dibandingkan dengan bakteriofeofitin *a* standar.



Gambar 5. Pola spektra bakteriofeofitin *a* dari ekstrak kasar pigmen *Rps. palustris* pada waktu tambat menit ke-19,32 (a) dan bakteriofeofitin *a* standar (b). Pola spektra bakteriofeofitin *a* standar diperoleh dari Prof. Hugo Scheer (*Ludwig Maximilians University, Jerman*)

Penurunan intensitas pada puncak bakteriofeofitin *a* seiring dengan lama pemanasan tidak terlalu signifikan dikarenakan sifatnya yang cukup stabil terhadap pengaruh pemanasan (**gambar 3**). Bakteriofeofitin merupakan turunan bakterioklorofil yang mengalami perubahan struktur makrosiklik sehingga memiliki kestabilan yang cukup tinggi terhadap proses degradasi (Susanti, dkk., 2007; Limantara, dkk., 2006).

KESIMPULAN

Pigmen *Rps. palustris* yang diekstrak dengan pelarut aseton maupun metanol memberi respon yang berbeda terhadap pemanasan suhu 65 °C. Pigmen *Rps. palustris* yang diekstrak dengan pelarut aseton mengalami penurunan absorbansi pita Q_y bakterioklorofil sebesar 14,62%, sedangkan pigmen yang diekstrak dengan pelarut metanol menunjukkan penurunan sebesar 18,83%. Kromatogram KCKT menunjukkan penurunan intensitas puncak utama bakterioklorofil *a* setelah pemanasan, penurunan intensitas yang lebih signifikan ditunjukkan oleh pigmen yang diekstrak dengan pelarut metanol (22863) dibandingkan pelarut aseton (18573). Produk degradasi bakterioklorofil *a* dari hasil pemanasan adalah bakterioklorin *a* dan bakteriofeofitin *a* yang diidentifikasi berdasarkan serapan maksimum pada pola spektranya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Wahyu Wijaya, Monika Nur Utami Prihastyanti, dan Renny Indrawati, mengucapkan terima kasih kepada Departemen Pendidikan Nasional atas Program Beasiswa Unggulan 2009 bidang Klorofil dan Pigmen Alami, yang diselenggarakan di Program Pascasarjana Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga. Ucapan terima kasih dan penghargaan secara khusus kepada Universitas Ma Chung atas kepercayaan dan kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Program Beasiswa Unggulan 2009, serta dukungan peralatan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Brandis, A.S.; Y. Salomon; A. Scherz. Chlorophyll Sensitizers in Photodynamic Therapy. 2006. In *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Biochemistry, Biophysics, Functions and Applications*; Grimm, B., R.J. Porra, W. Rüdiger, H. Scheer (Eds.), The Netherlands: Springer.
- [2] Chattopadhyay, P.; S. Chatterjee; S. K. Sen. 2008. Biotechnological Potential Of Natural Food Grade Biocolorants, *African Journal of Biotechnology*, 7 (17), 2972-2985.
- [3] Fejes, A.P. 2004. *Mass Spectrometry of Rps. palustris Chromatophores and a Method for Displaying Proteomes*, Thesis, The University of British Columbia.
- [4] Fajer, J.; D.C. Borg.; A. Forman; R.H. Felton; D. Dolphin, L.Vegh. 1974. The Cation Radicals of Free Base and Zinc Bacteriochlorin, Bacteriochlorophyll, and Bacteriopheophytin, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 71 (3): 994-998.
- [5] Herek, J.L.; W. Wohlleben; R.J. Cogdells; D. Zeidler; M. Motzkus. 2002. Quantum Control of Energy Flow in Light Harvesting, *Nature*, 417, 533-535.
- [6] Holm-Hansen, O. and B. Riemann. 1978. Chlorophyll *a* Determination: Improvements in Methodology, *Oikos*, 30, 438-447.
- [7] Limantara, L., P. Koehler, B. Wilhelm, R.J. Porra, H. Scheer. 2006. Photostability of Bacteriochlorophyll *a* and Derivatives: Potential Sensitizers for Photodynamic Tumor Therapy, *Photochemistry and Photobiology*, 82: 770-780.
- [8] Nelis, H.J. and A.P. De Leenheer. 1989. Profiling and Quantitation of Bacterial Carotenoids by Liquid Chromatography and Photodiode Array Detection, *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (12), 3065-3071.
- [9] Porra, R.J.; W.A. Thompson; P.E. Kriedemann. 1989. Determination of Accurate Extinction Coefficients and Simultaneous Equations for Assaying Chlorophylls *a* and *b* Extracted with Four Different Solvents: Verification of the Concentration of Chlorophyll Standards by Atomic Absorption Spectroscopy, *Biochimica et Biophysica Acta*, 975, 384-394.
- [10] Pratheesh, V.B.; N. Benny; C.H. Sujatha. 2009. Isolation, Stabilization and Characterization of Xanthophyll from Marigold Flower *Tagetes Erecta L*, *Modern Applied Science*, 3(2), 19-28.

- [11] Susanti, N.I., S. Trihandaru, L. Limantara. 2007. Fotostabilitas BChl *a* dan BPheo *a* dalam Pelarut Aseton-Air: Potensi terhadap Terapi Fotodinamika Kanker. Prosiding Back to Nature dengan Pigmen Alami. Seminar Nasional Pigmen. Salatiga, 24 Agustus 2007.
- [12] Varkonyi, Z.; K. Masamoto, M. Debreczeny; O. Zsiros; B. Ughy; Z. Gombos; I. Domonkos; T. Farkas; H. Wada; B. Szalontai. 2002. Low-Temperature-Induced Accumulation Of Xanthophylls And Its Structural Consequences In The Photosynthetic Membranes Of The Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*: An FTIR Spectroscopic Study, *PNAS*, 99 (4), 42410–2415.

