

Chlorophyll a

Photometrische Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehalts von Oberflächenwasser

Durchführung



Probenahme:



Für das Abfiltrieren des Phytoplanktons muss ein genau abgemessenes Volumen des zu untersuchenden Gewässers bereitgestellt werden, wobei dieses Volumen je nach Planktongehalt zwischen 0,5 - 5 L variieren kann. Ist der Gehalt absolut unbekannt, so muss das optimale Volumen in mehreren Versuchsdurchläufen empirisch bestimmt werden.

1. Entnehmen Sie ein Probenvolumen aus dem Gewässer, welches größer ist, als das zu filtrierende Volumen und messen Sie davon mit einem Messkolben eine genau definierte Menge ab. (= $V_{\text{Wasserprobe}}$)

Beispiel:

Es wird ein zu filtrierendes Volumen von 1 L vorgesehen:
Es werden ungefähr 1,2 L Wasserprobe aus dem Gewässer entnommen und davon 1 L mit einem Messkolben abgemessen.

MESSVERFAHREN: Photometrie

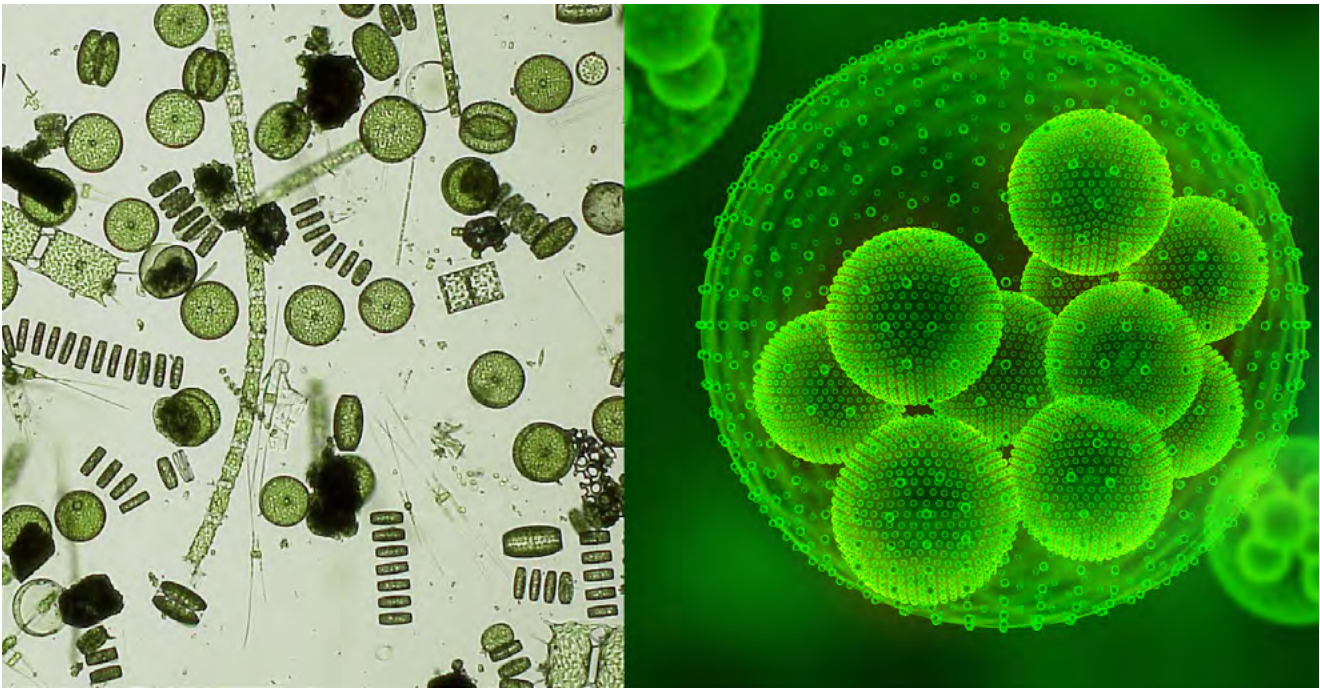
MESSBEREICH: 0 - 1000 µg/L
Durch Verdünnung der Probe sind weitere Konzentrationsbereiche erfassbar, welche aber durch den Extinktionsmessbereich des jeweiligen Photometers begrenzt werden.

MESSEINRICHTUNG: Spektralphotometer

ZUBEHÖR:

- 10 mm Rechteckküvetten
- Glasfaserfilter aus Borosilikatglas, ohne organische Bindemittel, mit einer Abscheidelast > 99 % für Partikel > 1 µm
- Dazu passende Nutsche mit Dichtungsmanschette und Saugflasche
- Pumpe
- Schlauchmaterial passend zu den Anschlüssen an Saugflasche und Pumpe
- Pasteurpipette
- Kolbenhubpipette mit 20 µL Volumen
- Kolbenhubpipette mit 3 mL Volumen
- Extraktionsgefäß: Braunglas-Weithals-Flasche mit Schliffstopfen-Verschluss V = 50 mL
- 2 Pinzetten
- Messkolben um Volumen der Wasserprobe abzumessen
- Temperierbares Wasserbad
- 25 mL Messkolben
- Glasstab

REAGENZIEN: Ethanol 90 % MEK vergällt,
2 M Salzsäure



Achten Sie dabei darauf, dass die Temperatur der Wasserprobe der vorgegebenen Temperatur für den Inhalt des Messkolbens entspricht (aufgedruckt auf dem Messkolben), andernfalls temperieren Sie die Probe auf die vorgegebene Temperatur.

Filtrierung:

- Bestücken Sie die Filternutsche mit dem Glasfaserfilter und saugen Sie das gesamte abgemessene Volumen mit Unterdruck durch den Filter. Lassen Sie anschließend die Nutsche für ca. 30 Sekunden trocken saugen.

Extraktion:

- Erwärmen Sie ca. 20 mL Ethanol im Wasserbad auf ca. 78°C.
- Entnehmen Sie das Filtermaterial mit einer Pinzette vorsichtig aus der Nutsche, geben Sie es in das Extraktionsgefäß und zerreißen Sie es innerhalb des Gefäßes mit einer zweiten Pinzette in kleine Stückchen. Wenn nötig, falten Sie den Filter vor dem Einbringen in das Extraktionsgefäß so, dass der Chlorophyll-Film zu seinem eigenen Schutz auf der Innenseite liegt.
- Geben Sie das erwärmte Ethanol über die Filterschnipsel, verschließen Sie das Extraktionsgefäß und geben Sie dieses für ca. 20 Minuten in das Wasserbad. Schütteln Sie das Gefäß während dieser Zeit mehrmals um.
- Bewahren Sie das weiterhin fest verschlossene Extraktionsgefäß über Nacht im Dunkeln auf.
- Entnehmen Sie anschließend die Flüssigkeit mit einer Pasteurpipette aus dem Extraktionsgefäß und überführen Sie sie in einen 25 mL Messkolben. Drücken Sie die Filterfasern schließlich mehrmals mit einem Spatel gegen die obere Wand des schräg gehaltenen Extraktionsgefäßes, so dass ein Maximum an Extrakt entnommen werden kann.
- Stellen Sie sicher, dass sowohl der Extrakt als auch das zum Auffüllen verwendete Ethanol die vorgeschriebene Temperatur für den Inhalt des Messkolbens haben (auf Messkolben aufgedruckt). Temperieren Sie die beiden Flüssigkeiten gegebenenfalls auf den geforderten Wert.
- Füllen Sie nun den 25 mL (= V_{Extrakt}) Messkolben bis zur Marke mit Ethanol und verschließen Sie ihn anschließend mit einem Stopfen.

i Der so gewonnene Extrakt ist lichtempfindlich und sollte vor Lichteinfall geschützt und so schnell wie möglich vermessen werden. Das Verdampfen des Ethanols ist durch ständiges Geschlossenhalten des Messkolbens zu verhindern.

i Sollte eine Trübung des Extraktes auftreten, welche die Messung der Extinktion verfälschen kann, so ist die Flüssigkeit zu zentrifugieren.

Sollte danach immer noch eine Trübung vorhanden sein, so ist eine Chromatographie notwendig, um das Stoffgemisch zu trennen, oder eine Trübungskorrektur der Extinktionswerte durch die Subtraktion der Extinktion bei 750 nm muss durchgeführt werden.

Näheres dazu in [1].

Messung:

i Die Aufnahme der Basislinie wird mit demselben Ethanol durchgeführt, welches für die Extraktion verwendet wurde.

10. Geben Sie 3 ml des Extraktes mit einer Pipette in eine 10 mm Rechteckküvette, messen Sie die Extinktion bei 665 nm und notieren Sie diesen Zahlenwert als E_{vor}

i Sollte bereits hier der Extinktionswert außerhalb des Messbereiches des Photometers liegen, so ist der Chlorophyllgehalt des Extraktes durch Veränderung des Extraktvolumens oder des Volumens der zu filternden Wasserprobe anzupassen.

11. Spülen Sie die Rechteckküvette mit Ethanol und trocknen Sie diese mit einem sauberen Zellstofftuch ab.

12. Geben Sie 3 mL des Extraktes in die gespülte Küvette, versetzen Sie diesen mit 20 μ L 2 M Salzsäure, mischen Sie kurz mit einem Glasstab durch und warten Sie ca. 10 Minuten.

13. Messen Sie nun die Extinktion der Probe bei 665 nm und notieren Sie den Zahlenwert als E_{nach} .



Berechnung:

Der Chlorophyll-a-Gehalt der Probe berechnet sich nach folgender Formel:

$$C_{\text{Chlorophyll-a}} = 29,6 \cdot (E_{\text{vor}} - E_{\text{nach}}) \cdot \frac{V_{\text{Extrakt}}}{V_{\text{Wasserprobe}} \cdot d}$$

Die einzelnen Formelzeichen haben dabei folgende Bedeutung:

$29,6$: Faktor berechnet sich aus $\frac{R}{R-1} \cdot \frac{10^3}{\alpha}$ [$\mu\text{g cm L}^{-1}$] mit $R = 1,7$ (Säurequotient von reinem Chlorophyll-a / empirischer Wert), $\alpha = 82 \text{ L } \mu\text{g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (spez. Extinktionskoeffizient von Chlorophyll a in 90 %igem Ethanol); 10^3 berücksichtigt die unterschiedlichen Einheiten von V_{Extrakt} [mL] und $V_{\text{Wasserprobe}}$ [L].
E_{vor}	= Extinktion vor der Säurezugabe
E_{nach}	= Extinktion nach der Säurezugabe
V_{Extrakt}	= Volumen des Extraktes in der Einheit mL (hier 25 mL)
$V_{\text{Wasserprobe}}$	= Volumen der mit einem Messkolben abgemessenen Wasserprobe in der Einheit L.
d	= Dicke der Messküvette in der Einheit cm (hier 1 cm)

Bitte achten Sie darauf, die Größen in der geforderten Einheit einzusetzen, da sonst ein fehlerhaftes Ergebnis resultiert.

Hinweis:

Manche Photometer bieten die Möglichkeit an, die Berechnung des Konzentrationswertes nach vorheriger Programmierung der Methode selbstständig durchzuführen. Schlagen Sie dies gegebenenfalls in der Bedienungsanleitung Ihres Photometers nach.

LITERATUR: [1] DIN 38412, Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehaltes von Oberflächenwasser

[2] Nusch/Palme: Biologische Methoden für die Praxis der Gewässeruntersuchung - Bestimmung des Chlorophyll-a- und Phaeopigmentgehaltes in Oberflächenwasser

HINWEISE: Die Angaben in unseren Applikationsberichten dienen ausschließlich der prinzipiellen Darstellung der Vorgehensweise bei der Anwendung unserer Messsysteme. Besondere Eigenschaften der jeweiligen Probe im Einzelfall oder spezielle Rahmenbedingungen auf Anwenderseite können jedoch eine veränderte Durchführung des Verfahrens oder ergänzende Maßnahmen erforderlich machen oder im Einzelfall dazu führen, dass ein beschriebenes Verfahren für die beabsichtigte Anwendung ungeeignet ist.

Außerdem können besondere Eigenschaften der jeweiligen Probe wie auch spezielle Rahmenbedingungen zu abweichenden Messergebnissen führen.

Die Applikationsberichte wurden mit größtmöglicher Sorgfalt erstellt. Trotzdem können wir für ihre Richtigkeit keine Gewähr übernehmen.

Es gelten unsere Allgemeinen Geschäftsbedingungen in der jeweils aktuellen Fassung

Haben Sie weitere Fragen?
Bitte wenden Sie sich an unser Customer Care Center:

WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH
Dr.-Karl-Slevogt-Straße 1
D-82362 Weilheim
Deutschland
Telefon: +49 881 183-0
Fax: +49 881 183-420
E-Mail: Info.WTW@Xylem-inc.com

www.WTW.com

Alle Namen sind eingetragene Handelsnamen oder Warenzeichen der Xylem Inc. oder eines seiner Tochterunternehmen. Technische Änderungen vorbehalten.
© 2012-2015 WTW GmbH.

Juli 2015