

Allgemeines:

Die Eutrophierung stehender und langsam fließender Gewässer ist ein wichtiger Gegenstand von gewässerökologischen Betrachtungen. Unter Eutrophierung wird dabei die Erhöhung der Versorgung von Gewässern mit Pflanzennährstoffen durch menschliche Aktivität und die dadurch gesteigerte Produktivität von Pflanzen und Algen verstanden.

Der Chlorophyll-a-Gehalt dieser Gewässer ist neben anderen Biomasse- und Bioaktivitätsparametern ein wichtiges Indiz zur Beurteilung des Grades der Eutrophierung von Oberflächengewässern.

Als wichtige Abbauprodukte des Chlorophylls gelten Phaeophytin und Phaeophorbide. Das Verhältnis von Chlorophyll-a- zur Phaeophytinkonzentration kann Hinweise auf den physiologischen Zustand der Algenzellen geben.

Methode:

Die Bestimmung der Chlorophyll a- und Phaeophyttingehalte erfolgt mittels spektrophotometrischer Messung eines ethanolischen Extraktes aus dem Filtrerrückstand einer Wasserprobe nach DIN 38412 - L16.

Material:

| | |
|-----------------|---------------------------------|
| LPV422.99.00001 | Spektralphotometer DR 2800 oder |
| LPV424.99.00001 | Spektralphotometer DR 3800 oder |
| LPV408.99.00001 | Spektralphotometer DR 5000 oder |
| LPV408.99.00001 | Spektralphotometer DR 5000 oder |
| LPV408.99.00001 | Spektralphotometer DR 5000 |
| 2629250 | Glasküvette 50mm |

- Filtereinrichtung (z.B. Wasserstrahlpumpe mit Saugflasche nach DIN12476)
- Filtrationsaufsatz mit Glasfritte oder Porzellannutsche Filterapparat zur Aufnahme eines Messkolben
- Homogenisator, Ersatzweise Mörser mit Ausgießer
- Extraktionsgefäß, lichtgeschützt
- Glasfaserfilter aus Borosilicatglas (> 99% für Partikel > 1µm) 100 ml Messkolben
- Erlenmeyerkolben
- Rundfilter
- Ethanol (90%)
- Salzsäure (2 N)

Bei erstmaliger Verwendung des DR 2800 / DR 3800 / DR 5000 DR 3900 / DR 6000:

Laden Sie die zusätzliche Auswertung als Applikation **Chlorophyll APP-PHM-0002** aus dem Internet herunter.

- Wählen Sie unter www.hach-lange.de **Chlorophyll** und **Dokumente und Software** die Applikation **Chlorophyll** aus und speichern Sie diese auf ihrem Rechner.
- Öffnen Sie die gezippte Datei mit einem Doppelklick und speichern Sie den für Ihr Photometer benötigten Ordner auf einen USB Stick
- DR 2800 / DR3800 dbhlc
- DR 5000 dbhl
- DR 3900 dbhlm
- DR 6000 dbhlh
- Nehmen Sie den USB Stick und laden Sie die Applikation auf ihr Photometer.
- In der PDF Datei finden Sie die Applikation mit ausführlicher Beschreibung.

Für weitere Information beachten Sie bitte die Bedienungsanleitung des Photometers.

Durchführung der Chlorophyll-Bestimmung

Probenvorbereitung

1. Nach ausreichender Homogenisation 0.5 l (– 2 l) der Wasserprobe über ein geeignetes Filter filtrieren.
2. Das zur Extraktion erforderliche Volumen an Ethanol in einem Gefäß mit aufgesetztem Kühler zum Sieden (78 °C) erhitzen.
3. Das nach der Filtration mit Algen belegte Filter falten, in Stücke reißen und mit etwa 30 ml heißem Ethanol im Extraktionsgefäß übergießen.
4. Nach dem Abkühlen die Filter im Extraktionsgefäß mit Hilfe eines Homogenisators zerkleinern.
5. Die Extraktionsdauer beträgt 6-24 Stunden (meist über Nacht).
6. Nach der Extraktion das Homogenisat durch einen Papier-Rundfilter (Blauband) filtrieren.
7. Das klare Filtrat in einem Messkolben, der in einem lichtgeschützten Filtrierapparat steht, auffangen.
8. Filter mit Ethanol spülen.
9. Die klare Pigmentlösung im Meßkolben mit Ethanol bis zur Marke auffüllen, umschütteln und vor Licht schützen.
10. Zur Differenzierung des Chlorophyll-a- und zur Bestimmung des Phaeophytin Gehaltes wird ein Teil des Extraktes mit Salzsäure angesäuert (0.3 ml je 100 ml Extrakt).
11. Zur Herstellung von saurem Ethanol werden 0.3 ml Salzsäure zu 100 ml Ethanol gegeben.

Arbeitsgang

1. Spektralphotometer einschalten und Anwenderprogramm **Chlorophyll-a** auswählen.
2. Ohne Küvette im Küvettenschacht auf Null drücken.
3. Küvette mit Ethanol (90%) füllen und auf Messen drücken.
4. Küvette mit saurem Ethanol (Schritt 11) füllen und auf Messen drücken.
5. Küvette mit Probe vor Ansäuern (Schritt 9) füllen und auf Messen drücken.
6. Küvette mit angesäuerter Probe (Schritt 10) füllen und auf Messen drücken.

Das Ergebnis wird in µg/l Chlorophyll-a-Gehalt und in µg/l Phaeopigmentgehalt angezeigt.
Für weitere Proben mit Punkt 5. fortfahren.

Arbeitsgang für Serien

1. Spektralphotometer einschalten und Anwenderprogramm **Chlorophyll-a_Serie** auswählen.
2. Ohne Küvette im Küvettenschacht auf Null drücken.
3. Küvette mit Ethanol (90%) füllen und auf Messen drücken.
4. Jetzt wird die Gesamtzahl der zu messenden Proben abgefragt. Anzahl auswählen und OK drücken. Nach der Messung erscheint „E2-1“.
5. Küvette mit saurem Ethanol (Schritt 11) einsetzen und auf Messen drücken. Anzeige Zwischenergebnis „E4-1“.
6. Jetzt nacheinander die die vorgewählte Anzahl an Küvetten mit Proben vor Ansäuern einsetzen und Messen drücken. Zwischenergebnisse werden angezeigt als „E6-1“, „E6-2“, „E6-3“,...
7. Jetzt nacheinander die die vorgewählte Anzahl an Küvetten mit angesäuerten Proben einsetzen und Messen drücken. Nach jeder messung werden die Ergebnisse angezeigt.
8. Nach der letzten Messung kann eine neue Serie mit Punkt 2. Begonnen werden.

Auswertung:

Der Chlorophyll-a-Gehalt wird nach folgender Gleichung berechnet:

$$\text{Chl-a in } \mu\text{g/l} = (A_V - A_N) * (R/(R-1)) * (V_E/(V_P * d)) * (1000/\alpha) \quad (1)$$

Hierin bedeuten:

A_V Extinktion vor Ansäuerung bei 665nm, korrigiert um Trübungskorrektur bei 750nm

A_N Extinktion nach Ansäuerung bei 665nm, korrigiert um Trübungskorrektur bei 750nm

R Verhältnis von $A_V : A_N$ für reines Chlorophyll-a = „Säurequotient“

V_E Volumen des Extraktes in ml;

V_P Volumen der filtrierten Wasserprobe in l;

d Schichtdicke der Küvette in cm;

α Spezifischer Absorptionskoeffizient für Chlorophyll-a in Ethanol

Angenommen sind folgende Faktoren in der Programmierung:

| | | |
|-----|------|---------------------------------------------|
| F1: | 29.6 | $R = 1.7$ und $\alpha = 82$ zusammengefasst |
| F2: | 100 | $V_E = 100 \text{ ml}$ |
| F3: | 0.5 | $V_P = 0.5 \text{ l}$ |
| F4: | 5 | $d = 5 \text{ cm}$ |

Damit vereinfacht sich Gleichung (1) zu:

$$\text{Chl-a in } \mu\text{g/l} = 29.6 * (A_V - A_N) * (V_E/(V_P * d)) \quad (2)$$

Es ist möglich, die Faktoren F2 für Extraktionsvolumen ($V_E = 100 \text{ ml}$), F3 für Volumen der Probe ($V_P = 0.5 \text{ l}$) und die Küvettenschichtdicke ($d = 5 \text{ cm}$) zu verändern und der eigenen Arbeitsweise anzupassen.

Der Phaeopigmentgehalt berechnet sich nach Gleichung (3):

$$\text{Phaeopigment in } \mu\text{g/l} = 20.8 * A_N * (V_E/(V_P * d)) - \text{Chl-a in } \mu\text{g/l} \quad (3)$$

Entsorgungshinweise

Die Entsorgung muss in Übereinstimmung mit den örtlichen und nationalen gesetzlichen Bestimmungen erfolgen.



LANGE



UNITED FOR WATER QUALITY