

*Ramstein-Miesenbach:
Projekt Seewoog – ein stehendes Gewässer unter die Lupe genommen*



Bestimmung der Trophie anhand des Chlorophyll-a-Gehaltes – Teil 1

Material:

- Teleskopstange mit Schöpfflasche
- Messkolben (1 L)
- Glasfaserfilter (aus Borosilikatglas ohne organische Bindemittel, mit einer Abscheidelast > 99 % für Partikel < 1 µm).
- Nutsche mit Dichtungsmanschette
- Saugflasche mit Pumpe (z.B. Handpumpe, Wasserstrahlpumpe)
- Pasteurpipette
- Papierfilter
- Kolbenhubpipetten (20 µm)
- 2 Falcon-Tubes (50 ml)
- 2 Pinzetten
- Glasstab
- 10 mm Rechteckküvette
- Küvettenhalter
- Photometer (desklab)

Reagenzien:

- Ethanol (90 % MEK vergällt)
- 2-molare Salzsäure



Durchführung:

Entnahme der Wasserprobe:

1. Entnimm mit der Teleskopstange und der Schöpfflasche eine 1,2 Liter Wasserprobe aus dem Oberflächenwasser. Umwickele die Flasche mit Alufolie, um die Probe vor Sonneneinstrahlung zu schützen (**Dieser Schritt wurde bereits auf der Exkursion durchgeführt**).

Filtration

2. Miss 1 Liter der Wasserprobe in einem Messkolben ab.
3. Bestücke die Nutsche mit einer Dichtungsmanschette. Befestige sie an einer Saugflasche mit Wasserstrahlpumpe. Lege einen Glasfaserfilter hinein.
4. Sauge das gesamte abgemessene Volumen (1 L) mittels der Pumpe durch den Filter. Lasse die Nutsche für ca. 30 Sekunden trocken saugen.

Extraktion

5. Entnimm den Filter mit der Pinzette aus der Nutsche. Falte den Filter mit einer zweiten Pinzette so, dass der Chlorophyll-Film auf der Innenseite liegt.
6. Zerreiße den Filter mit zwei Pinzetten in kleine Stücke und gib diese in ein Falcon-Tube mit ca. 20 ml Ethanol (90 % MEK vergällt). Verschließe das Falcon-Tube.
7. Gib das Falcon-Tube samt Ethanol und Filterstücke für 20 Minuten in ein Wasserbad von 78 °C. Schwenke es währenddessen mehrmals.
8. **Bewahre das fest verschlossene Extraktionsgefäß über Nacht im Dunkeln auf.**

*Ramstein-Miesenbach:
Projekt Seewoog – ein stehendes Gewässer unter die Lupe genommen*



Bestimmung der Trophie anhand des Chlorophyll-a-Gehaltes – Teil 2

Durchführung:

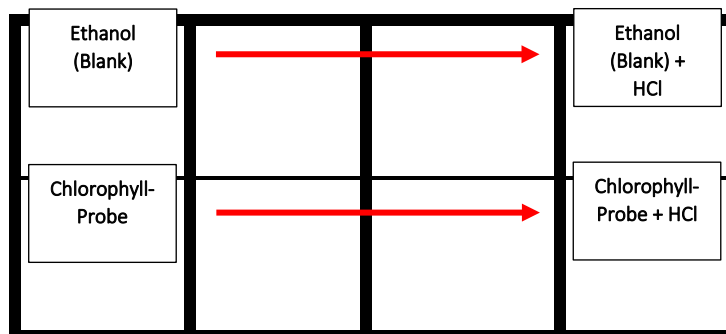
Filtration

1. Entnimm den Chlorophyll-Extrakt mit einer Pasteurpipette aus dem Extraktionsgefäß und überführe diesen in ein anderes Falcon-Tube. Drücke die Filterschnipsel an der Wand des schräg gehaltenen Extraktionsgefäß mit einem Spatel aus, sodass das Maximum an Extrakt gewonnen werden kann. Sollten Feststoffe (z. B. gelöster Glasfaserfilter) im Extrakt vorhanden sein, nutze zum Überführen des Extraktes einen Papierfilter.
2. Fülle das Falcon-Tube bis zur 25 ml-Marke mit Ethanol und verschließe es.
Vorsicht: Der Extrakt ist lichtempfindlich. Schütze ihn vor Lichteinfall und vermiss ihn schnell.

Photometrische Messung mit dem desklab-Photometer:

3. Verbinde das desklab-Photometer über das USB-Kabel mit dem Tablet/ Laptop, sodass das integrierte Display aufleuchtet.
4. Gib 3 ml Ethanol (Blank) mit einer Pipette in die erste Küvette. Stelle die Küvette in die Messkammer (achte auf die Pfeilrichtung!).
5. Miss mit dem Photometer die Extinktion von Ethanol (Blank) bei 660 nm. Stelle den angezeigten Extinktionswert auf dem integrierten Display mit dem Potentiometer auf den Wert 0.
6. Gib 3 ml des Chlorophyll-Extraktes mit einer Pipette in eine zweite Küvette.
7. Stelle die Küvette in die Messkammer (achte auf den Pfeil!). Miss mit einem Photometer die Extinktion bei 660 nm und notiere den Zahlenwert als E1.
8. Versetze die Ethanol-Probe und die Chlorophyll-Probe mit 20 µl Salzsäure. Mische mit einem Glasstab durch und warte 10 Minuten.
9. Miss die Extinktion der Probe bei 660 nm und notiere den Zahlenwert als E2.

Wichtig: Nutze folgende Anordnung für die Küvetten im Küvettenhalter:



*Ramstein-Miesenbach:
Projekt Seewoog – ein stehendes Gewässer unter die Lupe genommen*



Berechnung des Chlorophyll-Gehaltes (vgl. WTW, 2015; Klee, 1993)

E1 = _____ E2 = _____

V(Extrakt) = _____ V(Wasserprobe) = _____

Berechne nach folgender Formel die Chlorophyll-a-Konzentration in der Wasserprobe:

$$C_{\text{Chlorophyll-a}} = 29,6 * (E1 - E2) * \frac{V(\text{Extrakt})}{V(\text{Wasserprobe}) * d}$$

C _{Chlorophyll-a} =	Chlorophyll-a-Gehalt
E1 =	Extinktionswert vor der Säurezugabe
E2 =	Extinktionswert nach der Säurezugabe
V(Extrakt) =	Volumen des Extraktes in ml (hier: 25 ml = 0,025)
V(Wasserprobe) =	Volumen d. abgemessenen Wasserprobe im Messkolben in l (hier: 1 l)
d =	Dicke der Messküvette in cm (hier: 1 cm)

Falls die angegebenen Volumina genutzt wurden:

$$\text{_____} = 29,6 * (\text{_____} - \text{_____}) * \frac{0,025 \text{ l}}{1 \text{ l} * 1}$$

Falls ein anderes Volumen genutzt wurde:

$$\text{_____} = 29,6 * (\text{_____} - \text{_____}) * \frac{\text{_____} \text{ l}}{\text{_____} \text{ l} * 1}$$

Ergebnis:

Chlorophyll-a-Gehalt = [µg/l]