

Chlorophyll a als Maß der Phytoplanktonbiomasse

Das Phytoplankton ist eine sehr wichtige Komponente aquatischer Ökosysteme. Sie ist neben dem Phytobenthos für viele Gewässer (Seen, Teiche und Ozeane) die wichtigste Eintragsquelle an organischem Material (Primärproduktion), auf dessen Grundlage sich die Nahrungsnetze ausbilden. Nicht zuletzt bilden sie damit die Grundlage für die Fischerei in Seen, an Küsten bzw. den Auftriebsgebieten. Sehr hohe Biomassen haben aber auch negative Effekte, wie toxische Blüten, Wassertrübung, nach dem Sedimentieren Sauerstoffschwund.

Alle Pflanzen, Mikroalgen und Cyanobakterien haben Chlorophyll a als Photosynthesepigment. Es gibt eine Korrelation zwischen Biomasse und Pigmentgehalt. Deshalb wird Chlorophyll a als Proxy der Biomasse benutzt. Dafür wird die Biomasse mit einem Lösungsmittel extrahiert. Dieses Lösungsmittel muss eine mittlere Dielektrizitätskonstante besitzen, damit es Membranen zerstören kann (fettlösend), die Pigmente löst (fettlösend) und auch durch hydrophile Schleime hindurchtritt (wasserlöslich). Im Extrakt wird die das Pigment photometrisch quantifiziert, wobei die hohe Absorption von Pflanzenpigmenten im roten Wellenlängenbereich ausgenutzt wird.

Eine hohe Trophie haben Gewässer mit hoher Primärproduktion, die durch die Nährstoffeinträge gesteuert wird. Es wird angenommen bzw. postuliert, dass eine hohe Produktion durch eine hohe Biomasse entsteht. Damit wäre eine hohe Phytoplanktonbiomasse Anzeichen für eine Eutrophierung bzw. schlechte Wasserqualität.

Material:

25 mm Glasfaserfilter (am besten Whatman GF/F oder gleichartige)
Mensuren 25, 50 und 100 ml
Filtrationsanlage
15 ml Rotdeckelröhrchen
Zentrifuge (5000 rpm, am besten auf 5°C gekühlt)
Photometer
Glasküvetten OG 5 cm

Durchführung:

- So viele Milliliter auf ein 25 mm GF/F-Filter filtrieren, wie es geht. Boddenproben: 20-60 ml, Ostsee: 500-3000 ml. 2-3 Replikate. Vor Licht schützen.
- Je einen Filter in ein 15 ml fest verschließbares Zentrifugenröhrchen stecken. Können gefroren einige Wochen aufbewahrt werden.
- Überschichten mit 10 ml¹ 96%igem Ethanol, vortexen.
- 16-24 h im Kühlschrank dunkel inkubieren.
- **Alternativ:** 10 min in 70°C extrahieren.
- Zentrifugieren: 5000 U/min bei 5°C 5-10 min.
- Extinktionen messen bei 750 und 665 nm.
- Übriges Ethanol abgießen, Filter kurz zwischen Zellstoff auspressen.
- Ggg. 2. und 3. Extraktion (wenn Zunahme des Chlorophyllgehalts um >20%) über 16-24 h anschließen. Chlorophyllmengen addieren.

¹ Steht nur eine 1 cm Küvette zur Verfügung (Makroküvette mit 4 ml Inhalt), muss mit wenigstens 5 ml überschichtet werden. Die Genauigkeit ist deutlich geringer. Gibt es Halbmikroküvetten (1 cm), die 1 ml Probenvolumen benötigen, ist die Genauigkeit bei einem Extraktionsvolumen von 3 ml etwas geringer als bei der Variante 10 ml / 5 cm. Problematisch hier ist, dass der Strahlengang des Photometers genau ausgerichtet sein muss.

- **Alternativ:** Filter mit etwas Ethanol benetzen, Spatelspitze leichtes MgCO_3 hinzufügen und auf Eis gekühlt zermörsern.
- Ethanol in gekennzeichnete Abfallflasche entsorgen.

Berechnung:

- Von der Pigmentabsorption (665 nm) jeweils die zum Extrakt zugehörige E_{750} subtrahieren.
- Für jede Einzelbestimmung die Chlorophyllkonzentration berechnen, dann Mittelwert und Standardabweichung der Pigmentkonzentrationen einer Probe bilden.

$$\mu\text{gChla} \cdot \text{l}^{-1} = \frac{E_{665} \cdot v \cdot 10^6}{83 \cdot V \cdot d}$$

v Extraktionsvolumen [ml]
V filtriertes Volumen [ml]
d Länge der Messküvette [cm]

Vorschrift:

Baltic Marine Environment Protection Commission (1988)
LUNG SOP-Nr.: 640-P-Chlorophyll-KG