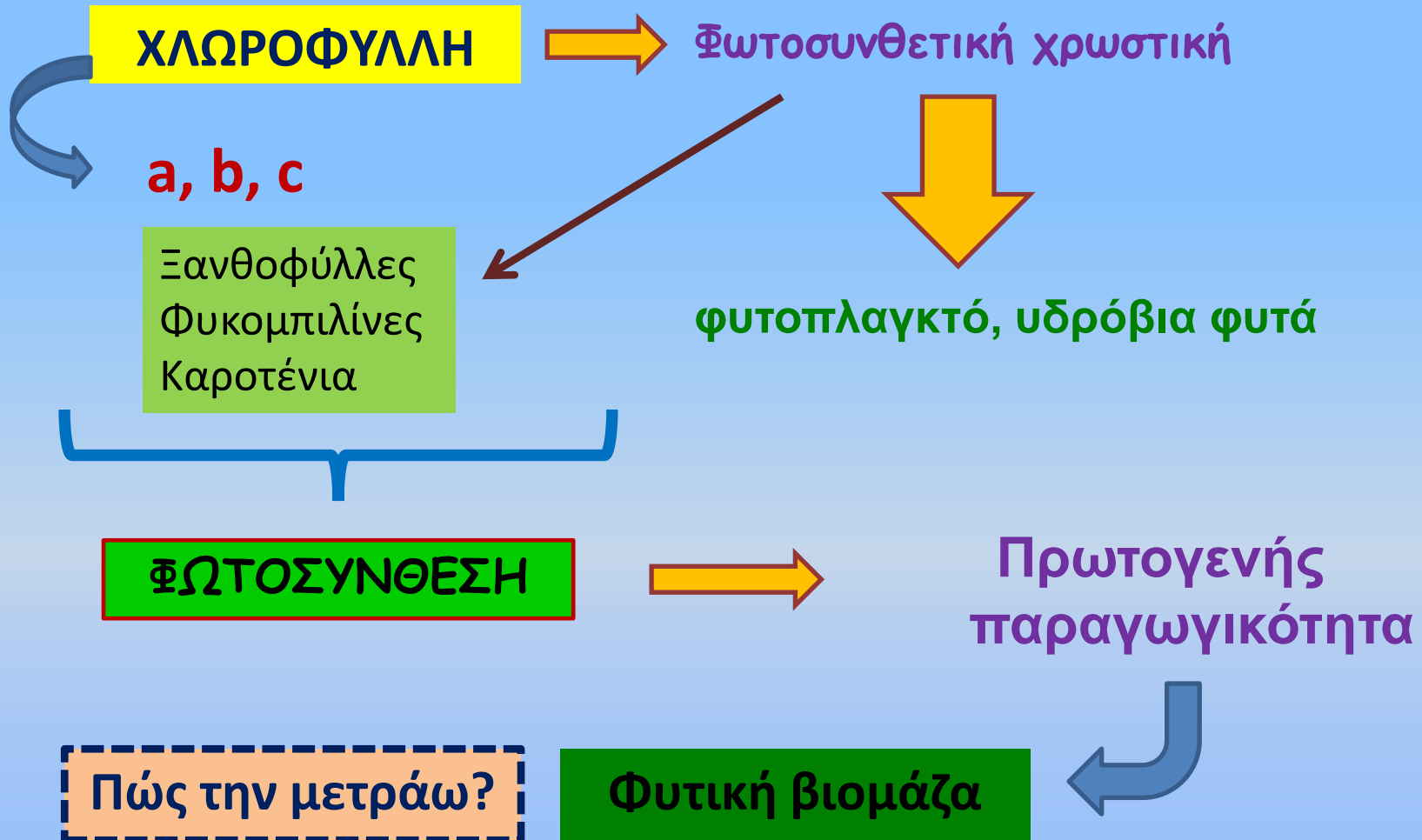


Διαχείριση υδάτινων οικοσυστημάτων

3^ο εργαστήριο

**ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΦΥΛΛΗΣ**

Πρωτογενής παραγωγικότητα & χλωροφύλλη

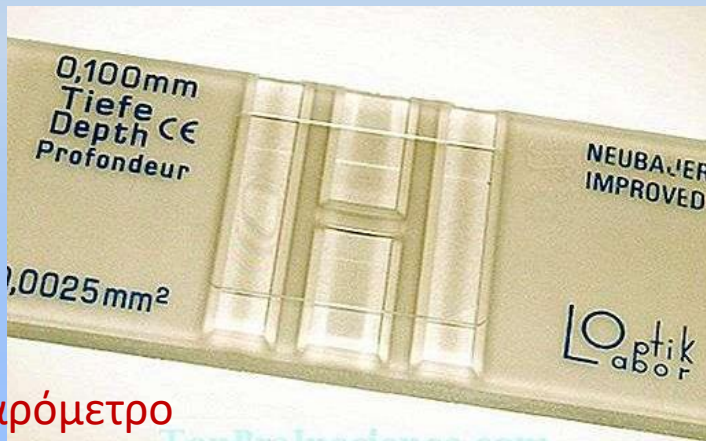
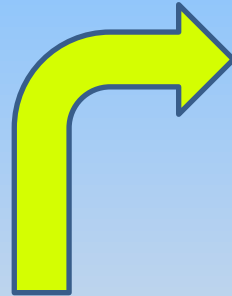
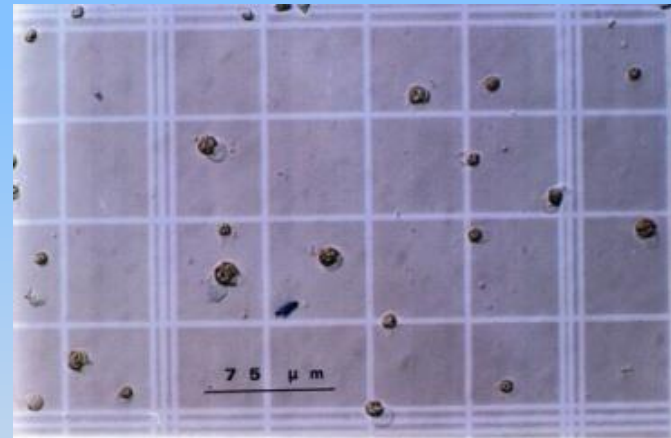


ΜΕΤΡΗΣΗ ΦΥΤΟΠΛΑΓΚΤΟΝΙΚΗΣ ΒΙΟΜΑΖΑΣ



Μέθοδος μικροσκοπίας

υπολογισμός της περιεκτικότητας του νερού σε φυτοπλαγκτονικούς οργανισμούς



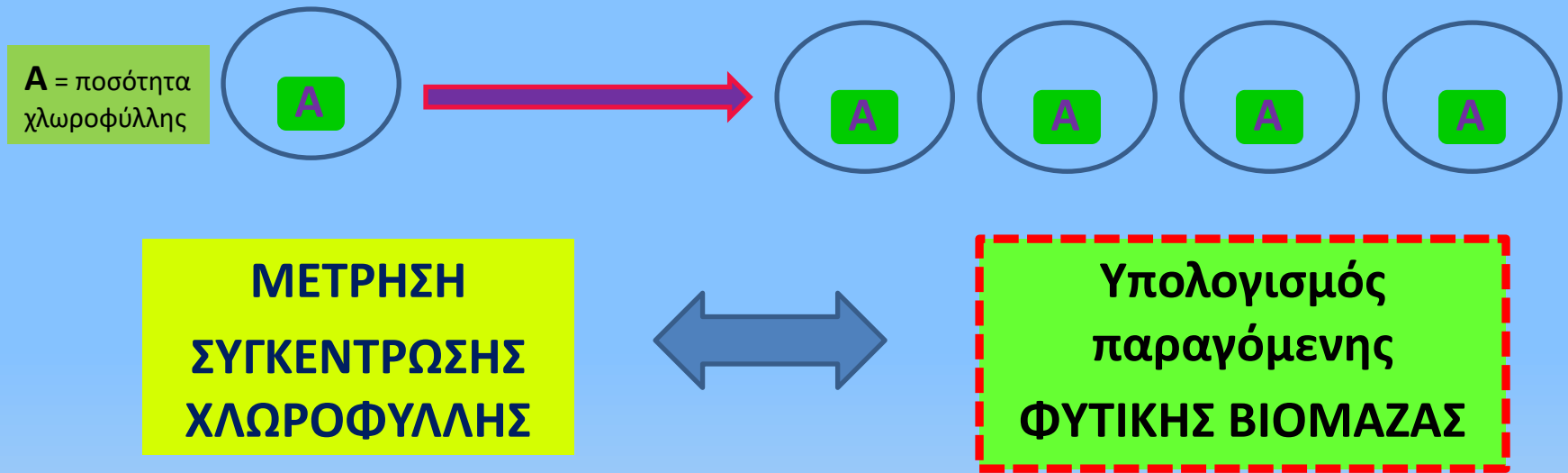
Αιμοκυτταρόμετρο

Άτομα/ml



Αναγωγή στον όγκο του δείγματος

Μέθοδος χλωροφύλλης



Μέθοδοι μέτρησης χλωροφύλλης

- A) Φασματοφωτομετρική μέθοδος
- B) Μέθοδος φθορισμού
- Γ) Μέθοδος HPLC (high-performance liquid chromatography)

A) Φασματοφωτομετρική μέθοδος

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ
- Καθιερωμένη μέθοδος	- Οδηγεί σε υπερεκτίμηση
- Χαμηλό κόστος	- Όχι συστηματικοποιημένες διαδικασίες
- Ταχύτητα	
- Μετράει πολλές χρωστικές	

B) Μέθοδος φθορισμού

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ
- Μεγάλη ευαισθησία	- Μετράει μόνο χλωροφύλλη-α
- Χαμηλό κόστος	- Απαιτεί καμπύλη αναφοράς
- Ταχύτητα	- Απαιτεί κάποια εμπειρία

Γ) Μέθοδος HPLC

ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ	ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ
- Υψηλή ακρίβεια	- Υψηλό κόστος
- Υψηλή ευαισθησία	- Χρονοβόρα
	- Απαιτεί σημαντική εμπειρία
	- Απαιτεί καμπύλη αναφοράς

Φασματοφωτομετρική μέθοδος

Πρόκειται για τριχρωματική μέθοδο κατά την οποία μετράται η απορρόφηση σε τρία μήκη κύματος (**664 nm**, **647 nm**, **630 nm**) συν ένα επιπλέον (**750 nm**) για τη θολερότητα (τυφλό). Οι απορροφήσεις που μετρούνται εφαρμόζονται σε ένα σετ τριών εξισώσεων μέσω των οποίων υπολογίζεται η συγκέντρωση των τριών χλωροφυλλών ($-a$, $-b$ και $-c$), ως εξής:

Μέθοδος Jeffrey and Humphrey (1975) και για τις τρεις χλωροφύλλες (Chl):

$$\text{Chl-a} = [11.85 \times (E_{664} - E_{750}) - 1.54 \times (E_{647} - E_{750}) - 0.08 \times (E_{630} - E_{750})] \times V_e / (L \times V_f)$$

$$\text{Chl-b} = [-5.43 \times (E_{664} - E_{750}) + 21.03 \times (E_{647} - E_{750}) - 2.66 \times (E_{630} - E_{750})] \times V_e / (L \times V_f)$$

$$\text{Chl-c} = [-1.67 \times (E_{664} - E_{750}) - 7.60 \times (E_{647} - E_{750}) + 24.52 \times (E_{630} - E_{750})] \times V_e / (L \times V_f)$$

Όπου:

L = οπτική διαδρομή κυψελίδας σε cm

Ve = Όγκος εκχυλίσματος σε ml

Vf = Όγκος δείγματος που εκχυλίστηκε σε L

Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$



Φασματοφωτόμετρο

ΕΝΑΡΞΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

1) Δειγματοληψία νερού

Συλλέγουμε νερό σε κλειστό δοχείο από την επιφάνεια ή και από διάφορα βάθη

Αναμένουμε οριζόντιες και κατακόρυφες διαφορές αλλά και εποχιακές διαφορές

→ 2 σταθμοί, 4 εποχές, βάθη: 0, 5, 10, 20, 30, 40, 50m

Διακύμανση 1γενούς παραγωγικότητας στον κόλπο

Φιάλη δειγματοληψίας



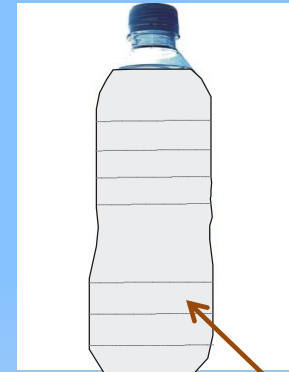
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

1) Συλλογή νερού

Συλλέγουμε νερό (500–1000 ml) από διάφορα βάθια και το διατηρούμε σε κλειστό δοχείο

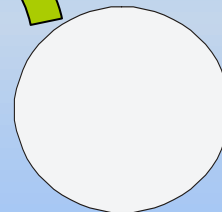


500 ml



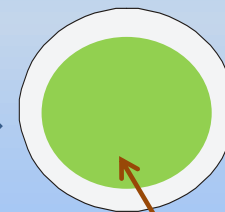
Αλουμινόχαρτο

2) Διήθηση νερού από φίλτρο GFF



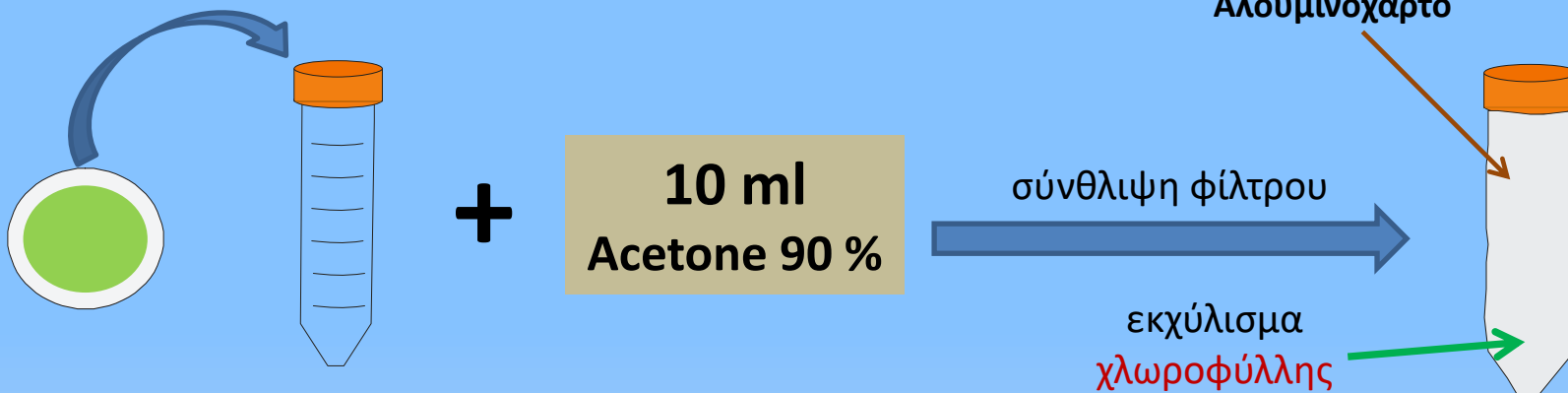
Φίλτρο
GFF

(μετά από διήθηση
500 ml νερού)



Συγκέντρωση
φυτοπλαγκτού

3) Παραλαβή χρωστικών



4) Φασματοφωτομέτρηση

Μετά από 24 ώρες στο ψυγείο



κυβέττα χαλαζία



ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ



ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός συγκέντρωσης χλωροφυλλών a, b, c σε 4 μήκη κύματος: **664nm**, **647nm**, **630nm** και στα **750nm**

$$C_a = 11.85(\text{OD}664) - 1.54(\text{OD}647) - 0.08(\text{OD}630)$$

$$C_b = 21.03(\text{OD}647) - 5.43(\text{OD}664) - 2.66(\text{OD}630)$$

$$C_c = 24.52(\text{OD}630) - 7.60(\text{OD}647) - 1.67(\text{OD}664)$$

(*) Η οπτική απορρόφηση στα 750nm χρησιμοποιείται για διόρθωση της θολερότητας. Αφαιρούμε αυτή την ένδειξη από όλες τις άλλες, πριν αρχίσουμε τους υπολογισμούς.

$$\text{Chlorophyll-a (σε mg/m}^3\text{)} = \frac{C_a \times \text{όγκος εκχυλίσματος}}{\text{όγκος δείγματος}}$$

(**) Με τον ίδιο τρόπο γίνονται οι υπολογισμοί και για τις υπόλοιπες χρωστικές.