

水中葉綠素 a 檢測方法—丙酮萃取法/分光光度計分析法

NIEA E507.02B

一、方法概要

水樣經過濾後，以 90% 丙酮溶液萃取其中之葉綠素a，再以分光光度計測得萃取液之吸光值，最後依吸光值計算水樣中葉綠素a含量。

二、適用範圍

本方法適用於池、河、湖泊、水庫等地面水體及海域水中浮游植物所含葉綠素a之檢測。

三、干擾

- (一) 葉綠素a之分解產物，如脫鎂葉綠素 (pheophytins) 及脫鎂葉綠甲酯—酸 (pheophorbides)，因其吸收波長與葉綠素a相同會產生之干擾。
- (二) 浮游植物內之其他色素，如葉綠素b、c、葉黃素 (xanthophyll)、藻膽色素 (phycobilins) 及類胡蘿蔔素 (carotenoids) 等會產生干擾。
- (三) 樣品具濁度時會產生干擾。

四、設備

- (一) 組織研磨器。
- (二) 離心機。
- (三) 離心管：10 mL，具螺紋蓋。
- (四) 分光光度計：頻寬 (band width) 2.0 nm 以下。
- (五) 過濾裝置。
- (六) 抽氣幫浦。
- (七) 玻璃纖維濾紙：直徑為 47 mm 或 25 mm，孔徑約 0.7 μ m (Whatman GF/F 或同等級產品)。
- (八) 定量瓶：100 mL。
- (九) 移液管：10 mL。

(十) 採樣瓶：500 mL或1 L 塑膠瓶。

(十一) 鑷子。

(十二) 酸鹼度計。

五、試劑

(一) 試劑水：導電度 25°C $10\ \mu\text{mho}/\text{cm}$ 以下，二氧化矽 $< 1\ \text{mg}/\text{L}$ 。

(二) 90% 丙酮溶液：將試藥級之丙酮與-試劑水以 90：10 之體積比混合。

(三) 葉綠素a標準品。

六、採樣及保存

(一) 視水中浮游植物密度採取代表性水樣約0.1 至 4 L，並記錄使用水樣體積及 pH。

(二) 採樣後立即放置暗處密封，以 4°C 冷藏方式保存，期限不得超過 24 小時。

(三) 以幫浦過濾水樣於玻璃纖維濾紙上。

(四) 過濾後之樣品亦可用冷凍方式保存，期限不得超過三星期。

七、步驟

(一) 萃取葉綠素a

1、將過濾後之濾膜放入組織研磨器中，並加入 2 至 3 mL 90% 丙酮溶液，再以 500 rpm 研磨 1 分鐘。

2、將研磨後之液體倒入有螺紋蓋之離心管中，以 90% 丙酮溶液淋洗研磨器，再將淋洗液倒入離心管中，並以 90% 丙酮溶液調整離心管內液體體積至 10 mL。

3、將離心管置於 4°C 及黑暗下靜置 2 小時以上。

4、將離心管放入離心機以 675 g 離心 15 分鐘。

5、離心後之上清液移入乾淨之離心管中並記錄體積(L)。

(二) 分光光度計定量

1、將七、步驟(一) 5 萃取液放入 1 cm 光徑之樣品槽中，分別讀取其在波長 750、664、647 及 630 nm 之

吸光度值並記錄之；各吸光度值分別代表濁度、葉綠素a、b及c等之相對濃度。

- 2、每一批樣品須以一片不含葉綠素a之濾膜依七、步驟(一)同時做空白分析；樣品之吸光度值須扣除空白分析值。

八、結果處理

(一) 萃取液中葉綠素a之濃度 (C_a) (mg/L)

$$= 11.85 (\text{Abs}_{664} - \text{Abs}_{750}) - 1.54 (\text{Abs}_{647} - \text{Abs}_{750}) - 0.08 (\text{Abs}_{630} - \text{Abs}_{750})$$

(二) 水樣中葉綠素a之濃度($\mu\text{g/L}$ 或 mg/m^3)

$$= \frac{C_a \times \text{萃取液體積}(\text{mL})}{\text{水樣體積}(\text{L})}$$

九、品質管制

- (一) 萃取液在波長 664 nm 之吸光度必須介於 0.1 至 1.0 之間，否則須調整水樣過濾體積(註)。
- (二) 操作萃取過程中必須在弱光下進行，並使用不透明容器以避免葉綠素a分解。
- (三) 必要時可由配製標準葉綠素a，校正計算結果。

十、精密度及準確度

略

十一、參考資料

- (一) APHA, AWWA and WPCF, Standard methods for the examination of water and Wastewater, 18th ed., American Public Health Association, Washington D.C., 1992.
- (二) ASTM, Standard practices for measurement of chlorophyll content of algae in surface waters, Designation: D3731-87, pp.15-18., 1987.
- (三) Parsons, T.R., Maita, Y. and Lalli, C.M. Determination of chlorophylls and total carotenoids, Spectrophotometric method. In "A manual of chemical and biological methods for seawater analysis", Pergamon Press. N.Y. U.S.A. pp.101-104., 1984.

(四) Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C. and Wright, S.W.
Phytoplankton pigments in oceanography : guidelings to
modern mentdos. UNESCO Press, 1995.

(五) U.S.EPA, In vitro determination of chlorophylls a, b, c₁ + c₂
and pheopigments in marine and freshwater algae by visible
spectrophotometry. Method 446.0, 1997.

註：水樣已調整至可過濾之最大量，但是分光光度計波長 664 nm吸光度
仍無法達到0.1時，建議該水樣改用NIEA E509.00C方法進行檢測。