

海水中叶绿素 a 样品保存条件的研究

黄灿金 林颂雄 叶淑迎
广州海兰图检测技术有限公司
DOI:10.12238/eep.v6i3.1744

[摘要] 叶绿素a是海洋生态系统中最常见的一种生物标志物,能够反映海洋生态系统的健康状况和营养状态。测量海水中叶绿素a含量对于环境保护、水资源管理和海洋科学研究具有重要意义。因此其测量方法和样品保存条件的研究具有重要的实际意义。本研究通过在不同温度和不同样品状态下保存不同时间的叶绿素a样品,并采用紫外分光光度法测定其叶绿素a含量,分析了保存温度、保存时间和样品状态对叶绿素a含量的影响,从而给出海水中叶绿素a样品的最佳保存条件。

[关键词] 叶绿素a; 样品保存条件; 保存温度; 保存时间; 样品状态
中图分类号: TQ611.5 **文献标识码:** A

Research on the Storage Conditions of Chlorophyll-a Samples in Seawater

Canjin Huang Songxiong Lin Shuying Ye
Guangzhou Ocean Land Testing Technology Co., Ltd

[Abstract] Chlorophyll-a is one of the most common biomarkers in marine ecosystems that can reflect the health and nutritive condition of marine ecosystems. The measurement of chlorophyll-a content in seawater is of great significance for environmental protection, water resources management and marine scientific research. Therefore, the study of its measurement method and sample preservation conditions is of great practical significance. In this study, chlorophyll-a samples were stored at different temperatures and different sample conditions for different time length, and then their chlorophyll-a contents were measured by ultraviolet spectrophotometry. Finally, the effects of storage temperature, storage time and sample condition on the content of chlorophyll-a were analyzed, and the optimal storage conditions for chlorophyll-a samples in seawater were determined.

[Key words] chlorophyll-a; sample storage conditions; storage temperature; storage time; sample condition

引言

(1) 研究背景。随着人类对自然环境的破坏加剧和海洋生态系统面临的压力不断增加,对海洋生态系统的保护和恢复变得越来越重要。叶绿素a是海洋生态系统中最常见的一种生物标志物,能够反映海洋生态系统的健康状况和营养状态。测量海水中叶绿素a含量对于环境保护、水资源管理和海洋科学研究具有重要意义^[1]。因此其测量方法和样品保存条件的研究具有重要的实际意义。

(2) 研究问题。海水中叶绿素a样品保存条件对叶绿素a含量的影响是一个重要的问题。在实际测量中,海水样品往往需要在采集后进行保存,以便于后续的实验分析。然而,不同的保存条件可能会对样品中叶绿素a的含量产生影响,这可能会影响后续的实验结果。因此,需要系统地研究不同保存条件下叶绿素a含量的变化规律,以便优化叶绿素a的测量方法和样品保存条件。

(3) 研究现状。目前已有一些研究探讨了叶绿素a样品保存

条件的影响。其中,保存温度和保存时间是影响叶绿素a含量变化的主要因素。一些研究表明,叶绿素a样品在低温下(4℃)保存可以较好地保持其稳定性,但是过低的温度会导致样品冻结,从而影响测量结果。同时,保存时间也会对叶绿素a含量产生影响,一些研究表明在样品保存时间过长的情况下,叶绿素a含量会逐渐降低。此外,保存容器的材质、光照条件、pH值等因素也可能对叶绿素a含量产生影响,但目前对这些因素的研究还比较有限。

在实际样品保存过程中,有些研究表明采用提取、离心处理并将样品转移到低温(-20℃或更低)的环境下可以有效地保护叶绿素a的稳定性。但是,这种保存方法可能需要较长的时间和较高的费用,并且在样品运输和处理过程中存在一定的困难。

因此,需要在探究叶绿素a样品保存条件的影响基础上,综合考虑实际应用中的因素,制定最佳的样品保存方案,以保证叶绿素a测量结果的准确性和可靠性。

表1 不同保存时间海水样品的叶绿素 a 测定结果(μg/L)

保存时间	常温(约 26℃)				冷藏(4℃)				冷冻(-20℃)			
	A1 组	B1 组	C1 组	D1 组	A2 组	B2 组	C2 组	D2 组	A3 组	B3 组	C3 组	D3 组
0.5d	9.21	9.15	8.72	8.91	9.08	9.26	8.94	9.35	9.41	9.24	9.14	8.96
1d	9.42	9.34	7.70	8.15	9.22	9.16	8.72	9.01	9.33	9.31	9.49	9.15
2d	9.05	8.92	7.62	7.56	9.12	9.19	8.49	8.72	9.54	9.45	8.96	8.83
4d	8.79	8.71	6.82	7.25	9.03	9.08	7.83	8.27	9.43	8.90	8.69	8.95
6d	7.73	8.12	7.05	6.38	9.13	9.16	7.23	7.82	9.15	9.27	8.86	9.05
8d	6.98	7.17	5.69	6.11	8.76	8.87	7.60	7.44	9.29	9.18	8.67	9.15
10d	6.38	6.69	4.99	5.40	8.21	8.36	7.06	7.07	8.91	8.86	8.46	8.83

表2 不同保存时间海水样品的 ΔC 值

保存时间	常温(约 26℃)				冷藏(4℃)				冷冻(-20℃)			
	A1 组	B1 组	C1 组	D1 组	A2 组	B2 组	C2 组	D2 组	A3 组	B3 组	C3 组	D3 组
0.5d	-0.13	-0.07	0.36	0.17	0.00	-0.18	0.14	-0.27	-0.33	-0.16	-0.06	0.12
1d	-0.34	-0.26	1.38	0.93	-0.14	-0.08	0.36	0.07	-0.25	-0.23	-0.41	-0.07
2d	0.03	0.16	1.46	1.52	-0.04	-0.11	0.59	0.36	-0.46	-0.37	0.12	0.25
4d	0.29	0.37	2.26	1.83	0.05	0.00	1.25	0.81	-0.35	0.18	0.39	0.13
6d	1.35	0.96	2.03	2.70	-0.05	-0.08	1.85	1.26	-0.07	-0.19	0.22	0.03
8d	2.10	1.91	3.39	2.97	0.32	0.21	1.48	1.64	-0.21	-0.10	0.41	-0.07
10d	2.70	2.39	4.09	3.68	0.87	0.72	2.02	2.01	0.17	0.22	0.62	0.25

表3 不同保存时间海水样品的 θ C 值

保存时间	常温(约 26℃)				冷藏(4℃)				冷冻(-20℃)			
	A1 组	B1 组	C1 组	D1 组	A2 组	B2 组	C2 组	D2 组	A3 组	B3 组	C3 组	D3 组
0.5d	1.01	1.01	0.96	0.98	1.00	1.02	0.98	1.03	1.04	1.02	1.01	0.99
1d	1.04	1.03	0.85	0.90	1.02	1.01	0.96	0.99	1.03	1.03	1.04	1.01
2d	1.00	0.98	0.84	0.83	1.00	1.01	0.94	0.96	1.05	1.04	0.99	0.97
4d	0.97	0.96	0.75	0.80	0.99	1.00	0.86	0.91	1.04	0.98	0.96	0.99
6d	0.85	0.89	0.78	0.70	1.01	1.01	0.80	0.86	1.01	1.02	0.98	1.00
8d	0.77	0.79	0.63	0.67	0.97	0.98	0.84	0.82	1.02	1.01	0.95	1.01
10d	0.70	0.74	0.55	0.59	0.90	0.92	0.78	0.78	0.98	0.98	0.93	0.97

1 研究方法

1.1 样品采集

本研究于2023年3月21日在广州洪奇沥水道附近海域采集海水样品作为叶绿素a样品。采集和运输样品过程中遵循《海洋监测规范第3部分：样品采集、贮存与运输》^[2] (GB17378.3-2007) 和《海洋监测规范第7部分：近海污染生态调查和生物监测》^[3] (GB17378.7-2007) 的相关要求。

1.2 实验设计

本研究设计为实验室实验，主要考虑保存温度、保存时间和

样品状态对叶绿素a含量的影响。具体实验设计如下：采集一定数量的海水样品，运送回实验室，充分混匀，分装为12组。取1L样品装入聚乙烯瓶分别在室温、4℃和-20℃下保存记为A1、A2、A3组；取1L样品装入棕色玻璃瓶分别在室温、4℃和-20℃下保存记为B1、B2、B3组；取1L样品过滤，过滤后的滤纸折叠后分别在室温、4℃和-20℃下保存记为C1、C2、C3组；取1L样品过滤，过滤后的滤纸折叠后再用锡纸包裹分别在室温、4℃和-20℃下保存记为D1、D2、D3组；各组样品分别保存0.5d、1d、2d、4d、6d、8d、10d，到设定时间取出一定数量的样品进行测量，以探究不同

保存条件下叶绿素a含量的变化规律;本实验其他条件保持一致,如相同盐度、相同pH值等。

样品分装完成后立即取2份海水样品进行叶绿素a含量分析,所测得数值的平均值为初始值记为 C_0 ,在设定时间在各组取出一定数量的进行叶绿素a含量分析,所测得数值记为 C_t ,以每天的测量值和初始值的变化量“ ΔC ”为指标进行不同保存方法的比较, $\Delta C=C_0-C_t$ 。以每天的测量值与初始值之比“ θC ”作为衡量比较保存稳定性的指标, $\theta C=C_t/C_0$ 。本文设定 θC 值在0.95-1.05区间时,数据稳定性在95%以上,保存效果好; θC 值在0.90-0.95或1.05-1.10区间时,稳定性在95%-90%,保存效果较好; θC 值在0.70-0.90或1.10-1.30区间时,稳定性在70%-90%,保存效果不好; θC 值在小于0.70或大于1.30时,稳定性在70%以下时,无法保存^[4]。

1.3 实验方法

《海洋监测规范第7部分:近海污染生态调查和生物监测》(GB17378.7-2007/8.2)叶绿素a-紫外分光光度法。

2 实验结果

当天取2份海水样品进行叶绿素a含量分析,所测得数值的平均值 $C_0=9.08\text{g/L}$ 。

由表3海水样品的 θC 值可以看出,A1组和B1组在保存4d,C1组和D1组在保存0.5d,A2和B2组在保存8d,C2组在保存1d,D2组在保存2d,A3和B3组在保存10d,C3组在保存8d,D3组在保存10d的 θC 值都在0.95-1.05区间内,即保存效果好;A2和B2组在第10d,C2组在第2d,D2组在第4d,C3组在第10d的 θC 值都在0.90-0.95区间内,即保存效果较好;A1组和B1组在6-10d,C1组和D1组在1-6天,C2组在4-10d,D2组在6-10d的 θC 值都在0.70-0.90区间内,即保存效果不好;C1组和D1组在8d之后的 θC 值小于0.70,即无法保存。

3 实验结论

本研究的实验结果表明,保存温度、保存时间和样品状态是影响叶绿素a含量的主要因素,采样瓶的材质对叶绿素a含量影响不大,此外,本研究其他因素如水质、盐度、pH值、光照等也

可能会对叶绿素a含量产生影响,需要进行更加全面和深入的研究。为获得最准确的叶绿素a含量数据,在温度为室温,样品状态为液体的条件下,样品可以保存4d;在温度为室温,样品状态为滤纸的条件下,样品可以保存0.5d;在温度为4℃,样品状态为液体的条件下,样品可以保存8d;在温度为4℃,样品状态为滤纸的条件下,样品可以保存1-2d;在温度为-20℃,样品状态为液体的条件下,样品可以保存10d;在温度为-20℃,样品状态为滤纸的条件下,样品可以保存8-10d。因此,在实际海洋监测或科学研究中,可以根据保存时长需求和实际的环境设备条件决定海水中叶绿素a样品的保存条件,建议在4d内测量的可以选择以液体状态在室温的条件下保存,4-8d内测量的可以选择以液体状态在4℃的条件下保存,8-10d内测量的可以选择以锡纸包裹滤纸状态在-20℃的条件下保存,10d及以上时间测量的可以选择以液体状态在-20℃的条件下保存。

本研究的实验条件和样本数量存在一定限制,实际海洋环境中保存叶绿素a样品的条件可能会有所不同。因此,在实际应用中,需要结合实际情况进行样品保存,并在测量前对样品进行必要的处理以提高测量精度和准确性。同时,对于不同类型的叶绿素a样品,其保存条件也可能有所差异,需要根据具体情况进行调整。

[参考文献]

[1]江天棋,张扬,姜亚洲,等.不同浮游植物叶绿素a提取方法的比较研究[J].海洋渔业,2020,42(04):445-453.

[2]GB 17378.3-2007,海洋监测规范第3部分:样品采集、贮存与运输[S].

[3]GB 17378.7-2007,海洋监测规范第7部分:近海污染生态调查和生物监测[S].

[4]安明梅,翁洁畅,梁泰尔.海水样品保存条件对活性磷酸盐测定的影响[J].广东化工,2019,46(24):140-141.

作者简介:

黄灿金(1995--),男,汉族,广东罗定人,本科,助理工程师,从事海洋环境监测工作。