



NOVANA

Teknisk anvisning for marin overvågning

1.2 Fluorescens

Stiig Markager
Afdeling for Marin Økologi

Jan G. Rasmussen
Københavns Kommune

Miljøministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser

Indhold

1.2	Fluorescens	1.2-3
1.2.1	Formål	1.2-3
1.2.2	Princip	1.2-3
1.2.3	Udførelse	1.2-4
1.2.4	Dataindberetning	1.2-4

1.2 Fluorescens

1.2.1 Formål

Fluorescensmålinger anvendes til at beskrive fordelingen af alger i vandsøjlen. Dette er vigtigt for fortolkningen af en række øvrige parametre og for vurdering af vandsøjles struktur. Endvidere bruges fluorescensmålinger til at identificere forekomsten af dybe klorofyl maksima, så vi kan tage prøver af disse.

1.2.2 Princip

Fluorescens er frigivelse af absorberet lysenergi. En række stoffer fluorescerer, fx humusstoffer, rhodamin og olie. Algepigmenter kan også frigøre absorberet lys som fluorescens, men hos planter er det kun en af tre måder for afledning af lysenergi. De andre to er som varme og ved fotosyntesen. Da den absorberede mængde lys er afhængig af koncentrationen af pigmenter i vandet, vil fluorescensen også afspejle pigmentkoncentrationen og dermed fytoplanktonbiomassen. Det er dog vigtigt at gøre sig klart, at der er en række forhold, som påvirker fluorescensen pr. algebiomasse eller pigmentenhed. Et fluorescenssignal kan derfor ikke direkte omsættes til en pigmentkoncentration, selvom mange fabrikater i deres programmer angiver, at udlæsninger er i $\mu\text{g Chl l}^{-1}$.

Fluorescenssignalet pr. klorofylenhed (F_{chl}) afhænger af en række forhold. Celler med lavt klorofylindhold har et højt F_{chl} fordi de enkelte pigmentmolekyler kun skygger lidt for hinanden inden i cellen. Så absorberes der meget lys pr. pigmentmolekyle og den udsendte fluorescens bliver i mindre grad absorberet af pigmenter på vej ud af cellen. Celler, hvor fotosyntese eller vækst er hæmmet af nærings-saltmangel, har også et højt F_{chl} signal, da fotosyntesen ikke kan aflede den absorberede lysenergi, som derfor i højere grad udsendes som fluorescens. Celler, hvor fotosynteseapparatet er skadet af højt lys (fotoinhibering), kan også have et højt F_{chl} signal. Disse forhold er ofte karakteristiske for fytoplanktonpopulationer nær overfladen. Omvendt har fytoplankton, som lever dybt i vandsøjlen, ofte et højt indhold af pigmenter pr. celle og et velfungerende fotosynteseapparat og derfor ofte et lavt F_{chl} signal. Omsætningen fra fluorescens til cellebiomasse (kulstof eller antal) er endnu mere kompliceret, da indholdet af pigmenter pr. celle varierer mellem populationer.

Selve måleprincippet er, at man belyser vandet med blåt lys (eks citationslys), som absorberes effektivt af algepigmenter. Noget af den absorberede lysenergi, ca. 1%, udsendes efter et energitab som lys ved en højere bølgelængde (emissionslys), og man måler derfor fluorescenssignalet i det røde område. Eks citations- og immissionsfiltrene kan have forskellig båndbredde, men den maksimale følsomhed for eks citation ligger mellem 430 og 440 nm, og emissionen sker omkring

685 nm. Større båndbredde giver et kraftigere signal men også større interferens fra fluorescens fra andre stoffer og fra baggrundsllys.

1.2.3 Udførelse

Fluoremeteret skal være anbragt på en CTD eller en håndholdt sonde med dybdemåler, således at man kan registrere sammenhørende værdier af fluorescens og dybde. Vedligeholdelse og brug af fluoremeteret forudsættes beskrevet i manualen.

Fluorescensmålinger skal udføres på alle stationer, hvor dybden er over 2 m. Hvis dybden er under 2 m, og forskellen mellem overflade og bund er mindre end 2°C eller 1 PSU, kan man undlade fluorescensmålinger.

Kalibrering

Som nævnt ovenfor kan signalet pr. klorofyl ikke forventes at være konstant, og en stadig kalibrering af signalet er derfor nødvendig. Samtidig er et varierende F_{chl} forhold ikke et udtryk for instrumentproblemer, men afspejler blot den naturlige variation i F_{chl} . Kalibreringen foretages ved at sammenholde fluorescenssignalet med en målt klorofylkoncentration. Sammenhængen bør være nogenlunde lineær, men kan evt. bøje noget af for høje klorofylværdier. Y-akse interceptet skal være meget tæt på nul. Den bedste kalibrering fås ved at udtage en delprøve af den samme batch, som der måles klorofyl på. Denne delprøve anbringes omkring fluoremeteret, og signalet aflæses. Målingen foretages i et mørkt kar af ikke fluorescerende materiale med ca. 30 cm vand foran linsen og ikke i direkte sollys eller kraftigt neonlys. Alternativt kan man aflæse fluorescenssignalet fra den dybde, hvor prøven er taget. Dette er den eneste mulighed, hvis fluoremeteret er monteret således, at man ikke kan måle i et lille volumen på dækket.

Kalibreringen bør principielt foretages for hvert profil. Dog kan man pulje målinger fra et homogent område inden for en dag og et vandlag, hvis målingerne ligger pænt omkring en linie.

Apparatets følsomhed bør jævnligt kontrolleres ved at sammenholde F_{chl} med signalet fra et nyt/nyrenoveret apparat af samme type. Hvis F_{chl} falder væsentligt, er det tegn på funktionsfejl. Den mest almindelige fejl er, at apparatets linsesystem er ude af fokus som følge af slag eller rystelser.

1.2.4 Dataindberetning

Dataindberetningen følger proceduren beskrevet for temperatur og salt.