



emica
solar

Concentración de clorofila en muestras de agua

DETERMINACIÓN MEDIANTE ESPECTROFOTÓMETRO
Ignacio Melon Menendez

1 Introducción

En muchas ocasiones nos referimos a las algas como cualquier flora que pueda crecer en el agua. La mayoría de las veces se trata simplemente de plantas acuáticas, cuya eliminación es muy compleja debido a las semillas y raíces que permiten que vuelvan a brotar una y otra vez. Las algas, sin embargo, carecen de tallo, hojas o tejido vascular. La determinación de la clorofila es un parámetro que nos puede indicar la calidad del agua en cuanto a la concentración de fitoplancton, que son las algas microscópicas. Con este parámetro es posible saber el nivel de vida que puede albergar una reserva de agua, en relación con los peces y plantas que viven en ella.

Las tres clorofilas generalmente encontradas en el fitoplancton son clorofila a, b y c. La clorofila viene a ser del orden del 1 al 2% del peso seco de las algas tipo plancton. Se trata de una molécula compleja que posee un átomo de magnesio en el centro con un anillo de porfirinas, que sería la cabeza de la molécula, y una cola de $\text{CH}_2\text{-CH}_3$.

La clorofila se puede detectar fácilmente mediante su respuesta a la luz a través de una medición óptica proveniente de muestras discretas de agua. Esto nos permite realizar comprobaciones periódicas de la calidad del agua y generar un cronograma de dicha evolución.

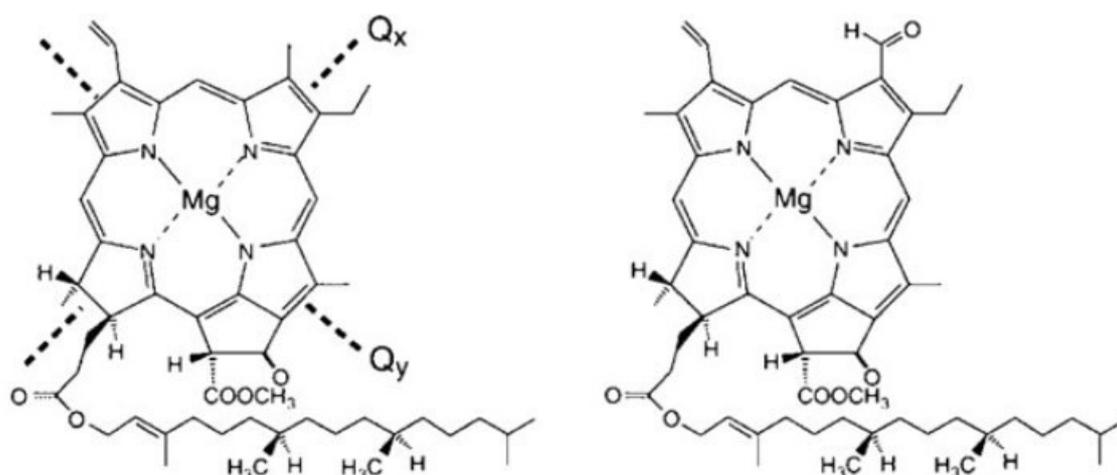


Ilustración 1- Representación de moléculas de clorofila a y b.

2 Procedimiento

1. Se recoge una muestra de agua, intentando que sea una zona no estancada para que la mezcla sea homogénea. Se coloca en un frasco de polietileno de 1 Litro, limpio y estéril.
2. Filtrar 250 mL de agua usando filtros de fibra de vidrio de calidad GF/F, tipo Whatman.
3. Con la muestra filtrada, se debe coger el filtro con gran precaución de no contaminar la muestra. Utilizando unas pinzas se dobla y se coloca en un tubo de ensayo que tenga posibilidad de tapar con rosca.
4. Añadir 5 mL de acetona al 90% de concentración, cerrar el tubo con el filtro y la acetona y se cubre con papel de aluminio para que la luz no tenga más influencia.
5. Agitar durante 1 minuto y guardar el tubo en el refrigerador durante 24 horas y en completa oscuridad (no abrir).

6. Tras dicho periodo, con una pipeta se extrae la acetona del tubo y se coloca en un tubo limpio.
7. Centrifugar la acetona del nuevo tubo durante 10 minutos a 3000 rpm.
8. Extraer del tubo entre 1 y 3 mL y colocarlos en la celda del espectrofotómetro.
9. Elegir el tamaño de la celda que proporcione una absorbancia mayor de 0,2 y menor de 1, a 664nm, siendo habitual entre 1 y 2 cm.
10. Medir las absorbancias de la muestra a 664 nm, 647 nm y 630 nm en el espectrofotómetro.

3 Cálculo

Apoyándose en las ecuaciones de Jeffrey & Humphrey (1975), se calculan las concentraciones como sigue:

$$C_a = (11.85 \cdot A_{664}) - (1.54 \cdot A_{647}) - (0.08 \cdot A_{630})$$

$$C_b = (-5.47 \cdot A_{664}) - (21.03 \cdot A_{647}) - (2.66 \cdot A_{630})$$

$$C_c = (-1.67 \cdot A_{664}) - (7.6 \cdot A_{647}) - (24.52 \cdot A_{630})$$

Cabe resaltar que la lectura a 750nm se usa como corrección de la turbidez, por lo que habrá que restar esta lectura de los valores de absorbancia de las otras longitudes de onda, que son las absorbancias corregidas, como se refleja en las ecuaciones.

Los valores corregidos se deben sustituir en las ecuaciones de concentración siguientes:

$$\text{Clorofila a (mg/L)} = [C_a \cdot v] / [L \cdot V]$$

$$\text{Clorofila b (mg/L)} = [C_b \cdot v] / [L \cdot V] \text{ Clorofila}$$

$$c \text{ (mg/L)} = [C_c \cdot v] / [L \cdot V]$$

Donde,

v: volumen de acetona usado para extraer los pigmentos (mL).

L: longitud de la celda del espectrofotómetro (cm).

V: volumen de agua filtrada (L).