

# Smart Notes



## ¿Qué es la Clorofila a?

La clorofila es el pigmento verde en las plantas que les permite crear energía a partir de la luz para fotosíntesis. Al medir la clorofila, usted está midiendo indirectamente la cantidad de plantas fotosintetizantes (como algas o fitoplancton) que se encuentran en una muestra. La clorofila un pigmento es universal a todos los tipos de plantas, mientras que otras clorofilas (tales como b, c1, c2, d, f) pueden ser específicas de ciertas plantas, algas o cianobacterias y pueden usarse para identificar los principales grupos de algas presentes.<sup>1</sup>

## ¿Por qué medir la clorofila a?

El flujo de nutrientes, como el fósforo y el nitrógeno, en las aguas interiores y costeras contribuye a un mayor crecimiento de algas. La Figura 1, en la página siguiente, muestra cómo la clorofila a puede correlacionarse con el nitrógeno inorgánico disuelto (DIN).<sup>2</sup> Los cambios en las cargas de nutrientes también pueden cambiar la composición y diversidad de las especies de fitoplancton.

Los altos niveles de algas a menudo indican una mala calidad del agua y los niveles bajos a menudo sugieren buenas condiciones. Los niveles elevados de fitoplancton pueden reducir la claridad del agua, afectando el crecimiento de los pastos marinos y las pesquerías relacionadas. En casos extremos, la eutrofización puede conducir a hipoxia ("zonas muertas" agotadas de oxígeno que matan peces, mariscos y crustáceos) y floraciones de algas dañinas y/o tóxicas. Desde el punto de vista de la calidad del agua, la clorofila a es la mejor medida disponible y más directa de la cantidad y calidad del fitoplancton y el potencial de reducir la claridad del agua y reducir las deficiencias del oxígeno disuelto.<sup>3</sup> La clorofila a a menudo se reporta en masa por unidad de volumen, por ejemplo,  $\mu\text{g/L}$ ,  $\text{mg/L}$ . El umbral de clorofila para los impactos en los peces generalmente se considera de  $100 \mu\text{g/L}$ .<sup>2</sup> Las aguas más limpias tendrán niveles de clorofila inferior a  $5 \mu\text{g/L}$ .<sup>5</sup> La norma de calidad del agua específica y aplicable dependerá de los usos y objetivos de esa masa de agua.



## ¿Quién mide la Clorofila a?

Las plantas de tratamiento de agua potable con embalses de agua superficial medirán la clorofila a para gestionar el agua de la fuente. Esto puede incluir predecir y controlar las floraciones de algas o determinar dónde extraer agua para evitar la ingesta de algas, que pueden obstruir los sistemas de filtración, aumentar la carga orgánica, causar molestias para la salud pública y requerir un tratamiento adicional. En los Estados Unidos, otras agencias que analizan la clorofila a incluyen: Us Army Corps of Engineers; Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US EPA); agencias y laboratorios ambientales estatales; Programa de la Bahía de Chesapeake; Us Geological Survey (USGS); Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA); Audubon de Florida; instituciones académicas, y otros.

## ¿Cómo es medida la Clorofila a?

La clorofila a se mide filtrando una cantidad conocida de agua de muestra a través de un filtro, generalmente un filtro de fibra de vidrio. El filtro se procesa en una solución de acetona, que luego se procesa y analiza. Existen tres técnicas estándar para determinar las concentraciones de clorofila a: espectrofotometría, fluorometría y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). La espectrofotometría es el método de laboratorio más utilizado. El tiempo de procesamiento de la muestra es típicamente de 1 a 5 minutos, el límite de detección estimado (DL) es de 0,08 mg/L6 (utilizando una celda de 1 cm; use más grande para dl más baja) y el costo de instrumentación es bajo. El método de HPLC es capaz de diferenciar entre tipos de clorofila y pigmentos accesorios, pero es una técnica más lenta y exigente, por ejemplo, 20-25 minutos de tiempo de procesamiento de la muestra. El costo de un instrumento de HPLC puede ser 10 veces el costo de un espectrofotómetro, y hay considerables costos de consumibles en curso. La fluorescencia es un método indirecto para medir la clorofila a, y es muy adecuado para el monitoreo remoto.

Para medir la clorofila a mediante la técnica espectrofotométrica, se utiliza un espectrofotómetro con un ancho de banda estrecho (paso) para tomar mediciones en múltiples longitudes de onda. Por ejemplo, el método tricromático utiliza mediciones a 750 nm (corrección de turbidez), 664 nm (clorofila a), 647 nm (corrección de clorofila b) y 630 nm (corrección de clorofila c1, c2). Ver espectros de absorción para la clorofila a y b en la imagen de la derecha, Figura 2.

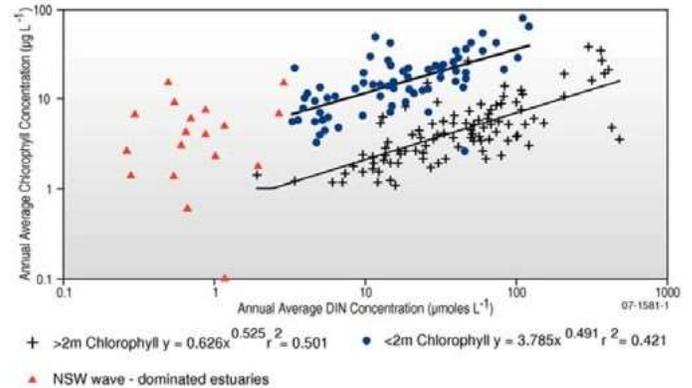


Figure 1. Clorofila a corresponde a DIN.

Un método alternativo utiliza mediciones a 750, 664 y/o 665 nm antes y después de la acidificación, que corrige las interferencias de feofitina a y turbidez. Las longitudes de onda y ecuaciones utilizadas dependerán del método elegido. Ejemplos de métodos de prueba aceptados de clorofila a incluyen US EPA 446.0, Standard Methods 10200 H, ASTM D3731, DIN 38412-16, ISO 10260 y otros.

## Equipo para el ensayo de clorofila a por espectrofotómetro

El espectrofotómetro Thermo Scientific™ Orion™ AquaMate™ UV-Vis es una buena opción para esta prueba y cumple con los requisitos para los métodos de prueba de clorofila aceptados, como los enumerados anteriormente. El instrumento tiene el paso de banda estrecha necesario, cubre las longitudes de onda requeridas, acomoda células de muestra de 1 a 10 cm y está diseñado para ofrecer la precisión, confiabilidad y facilidad de uso que su laboratorio requiere.

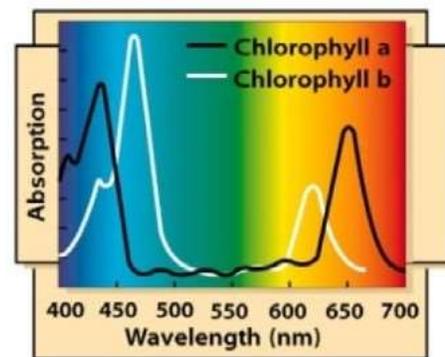


Figure 2. Espectros de absorción para clorofila a y b.

Product	Cat. No.
<b>Instrumentos</b>	
Espectrofotómetro Orion AquaMate UV-Vis	AQ8000 / AQ8100
<b>Accesorios, partes y consumibles</b>	
Celdas de vidrio emparejadas de 1 cm (10 mm) (otras celdas disponibles para límites de detección más bajos)	331709-000
Precisión de la longitud de onda y conjunto de filtros de estándares de rendimiento del instrumento	840-312600
<b>Servicios</b>	
Servicio de recalibración para el filtro de estándares establecido anteriormente	701-101600
Calibración anual	Please contact Technical Support

Please contact your local representative for support or go to <http://www.unitylabservices.com>

## References

1. Method 10200 H. Chlorophyll, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, [standardmethods.org](http://standardmethods.org).
2. Chlorophyll a concentrations, Ozcoasts, Marine & Coastal Environment Group, Geoscience Australia, [http://www.ozcoasts.gov.au/indicators/chlorophyll\\_a.jsp](http://www.ozcoasts.gov.au/indicators/chlorophyll_a.jsp).
3. Ambient Water Quality Criteria, USEPA April 2003, [http://www.chesapeakebay.net/content/publications/cbp\\_13142.pdf](http://www.chesapeakebay.net/content/publications/cbp_13142.pdf).
4. Nielson, J. and P. Jernakoff, P. 1996. A review of the interaction of sediment and water quality with benthic communities. Port Phillip Bay Environmental Study. Technical Report No. 25, 1-130.
5. Method 446.0 In Vitro Determination of Chlorophylls a, b, c1 + c2 and Pheopigments in Marine and Freshwater Algae by Visible Spectrophotometry. National Exposure Research Laboratory, US EPA, Cincinnati, OH. [https://cfpub.epa.gov/si/si\\_public\\_file\\_download.cfm?p\\_download\\_id=525241&Lab=NERL](https://cfpub.epa.gov/si/si_public_file_download.cfm?p_download_id=525241&Lab=NERL).
6. Absorption spectra for chlorophyll a and b, <https://wiki.bio.purdue.edu/biol13100/index.php/File:Chlorophyll.JPG>

Find out more at [thermofisher.com/aquamate](http://thermofisher.com/aquamate)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

This product is intended for General Laboratory Use. It is the customer's responsibility to ensure that the performance of the product is suitable for customer's specific use or application. © 2016, 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified. SN-CHLOROPHYLL-E 1020