

# Anhang B

## Anhang: $PSII_{Ca}$ -Proben

### Herstellung hochreiner, calciumfreier Lösungen

- Puffer ohne  $MgCl_2$  in PE-Flaschen, die mit 0,2 %iger  $HNO_3$  vorbehandelt wurden, füllen.
- Zugabe von Chelex-100 (Natrium-Form, p.a., Merck): 50 g auf 1 l Puffer.
- Mindestens für 6 Stunde schütteln oder über Nacht stehen lassen.
- Filtration vorbereiten: Apparatur mit 0,2 %iger  $HNO_3$  vorbehandeln, Filterpapier (Schleicher&Schuell, Gelbband,  $\varnothing 70$  mm) mit einer Kunststoffpinzette einlegen und mit ca. 50 ml 0,2 %iger  $HNO_3$  bei leichtem Wasserstrahlvakuum spülen.
- Puffer vorsichtig auf das Filterpapier gießen, dabei den Inhalt der PE-Flasche möglichst nicht aufschütteln. Gleichzeitig leichtes Vakuum anlegen und das Filterpapier mit der Pinzette leicht andrücken. Die ersten 50 ml Puffer als Vorlauf verwerfen.
- Die restliche Lösung filtrieren. Wichtig: das Chelex-100 nicht völlig trocken saugen, sondern einen leichten Flüssigkeitsrest darauf stehen lassen, daher nur leichtes Vakuum anlegen.
- pH-Werte nachregulieren, gegebenenfalls  $MgCl_2$ -Stammlösung zufügen.
- Von jedem Ansatz eine Probe für AAS-Kontrollmessungen in eine gespülte PE-Flasche abfüllen.

Austauscherkapazität von Chelex-100: 0,40 meq/ml bei feuchtem Harz mit einer Dichte von 0,65 g/ml (meq: Milli-Äquivalente).

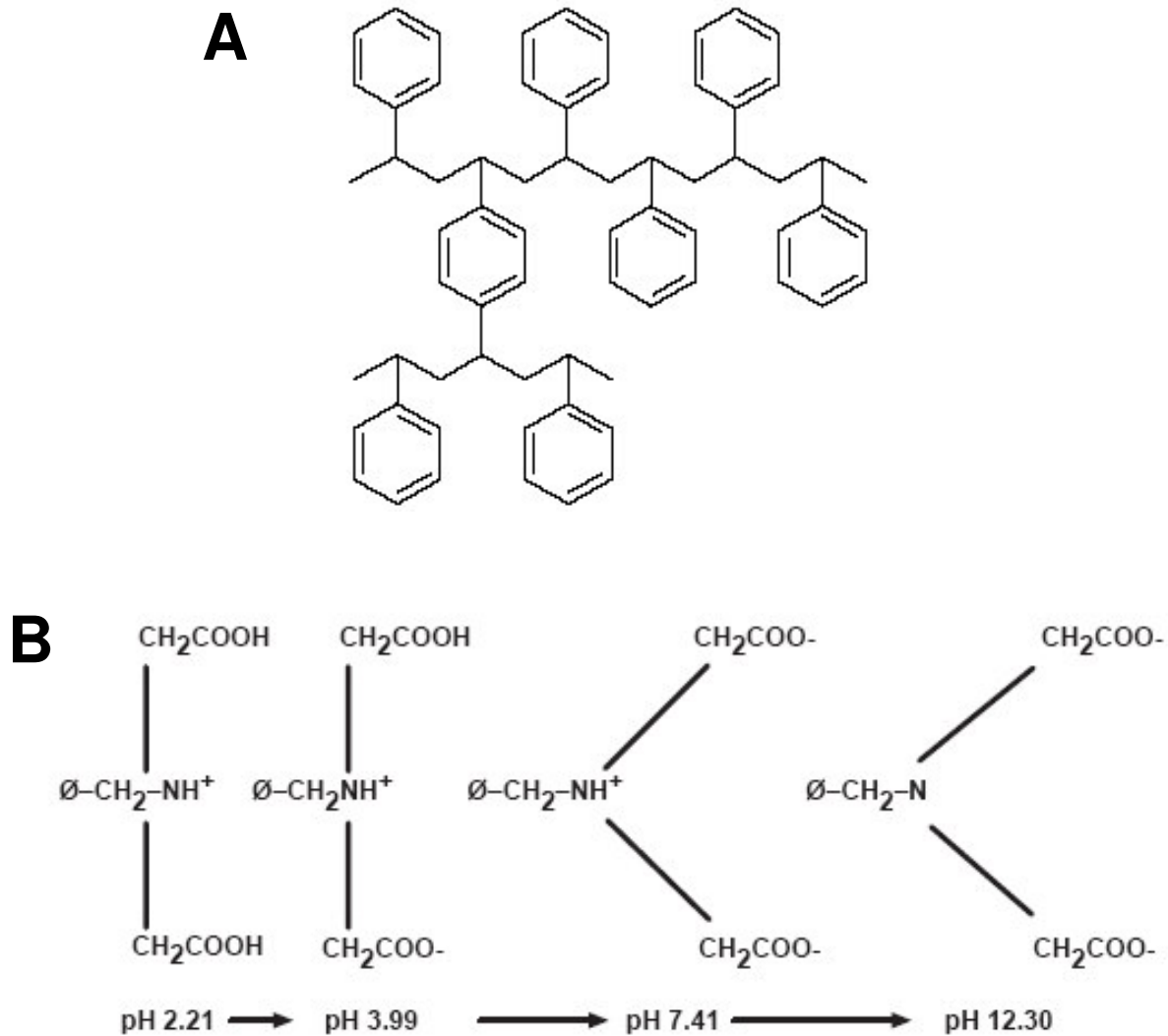


Abbildung B.1: Darstellung des Austauschharzes Chelex-100, einem Styroldivinylbenzol-Kopolymer mit Paaren von Iminodiacetat-Ionen, die als Chelatgruppen für divalente Kationen funktionieren. Chelex-100 gehört zur Klasse der schwachen, sauren Kationenaustauscher auf Grund seiner Carboxylgruppen. Es unterscheidet sich jedoch von anderen Ionen-Austauschern durch seine hohe Selektivität und einer hohen Bindungsstärke. Die Selektivität für Metallionen bezieht sich auf die Iminodiessigsäure. Sie verändert sich abhängig von dem pH-Wert, der Ionen-Stärke und der Anwesenheit anderer Komplex-bildender Spezies. Chelex-100 kann in basischen, neutralen und schwach sauren Lösungen bei pH 4 und höher eingesetzt werden. Bei sehr niedrigen pH-Werten agiert das Harz als Anionenaustauscher. Bei pH-Werten  $\leq 7$  ist die Ionenaustausch von Ca<sup>2+</sup>-Ionen besonders effektiv durch die erhöhte Anzahl an doppelt ionisierten Diacetatgruppen im Inneren des Harzes [Luttrell et al., 1971], gleichzeitig wird nachweislich nur physiologisch nicht relevantes Calcium aus der PSII-Probe entfernt [Kashino et al., 1986; Han und Katoh, 1993]. (A) Vernetzter Styroldivinylbenzol-Kopolymer, Trägermaterial von Chelex-100. (B) Strukturänderungen der Chelator-Reste während ansteigenden pH.

## Parameter für die Bestimmung von Calcium und Mangan mittels Atomabsorptionsspektrometrie

Calcium-Standard:

Calcium Ionen-Standardlösung für AAS, 1,000 g Ca/l  $\pm$  0,3 % (20 °C), Fluka

Mangan-Standard:

Mangan Ionen-Standardlösung für AAS, 1,000 g Mn/l  $\pm$  0,3 % (20 °C), Fluka  
Spektrochemischer Puffer (Matrixmodifier):

Magnesiumnitrat-Hexahydrat  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ; Suprapur, Merck  
3  $\mu\text{g}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  pro Graphitrohrfüllung

Wavelength	422.7 nm
Low Slit	0.7 nm
Rollover	1.8 A
Characteristic Mass	1.0 pg/0.004 A s <sup>-1</sup>
Sensitivity Check	2.0 $\mu\text{g}$ for 0.18 A s <sup>-1</sup>

Tabelle B.1: Vom Hersteller PerkinElmer empfohlene Bedingungen für AAS-Messungen von Calcium.

Wavelength	279.5 nm
Low Slit	0.2 nm
Rollover	1.1 A
Characteristic Mass	6.3 pg/0.004 A s <sup>-1</sup>
Sensitivity Check	10.0 $\mu\text{g}$ for 0.14 A s <sup>-1</sup>

Tabelle B.2: Vom Hersteller PerkinElmer empfohlene Bedingungen für AAS-Messungen von Mangan.

Standard 1	10 $\mu\text{g}$ Mn/l + Matrixmodifier	1 $\mu\text{g}$ Ca/l
Standard 2	20 $\mu\text{g}$ Mn/l + Matrixmodifier	2 $\mu\text{g}$ Ca/l
Standard 3	30 $\mu\text{g}$ Mn/l + Matrixmodifier	5 $\mu\text{g}$ Ca/l
Standard 4	40 $\mu\text{g}$ Mn/l + Matrixmodifier	10 $\mu\text{g}$ Ca/l

Tabelle B.3: Konzentrationen für die Kalibrierungskurven bei AAS-Messungen von Calcium und Mangan.

Step	Temp.	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Read
	°C	s	s	ml/min	
Drying 1	110	1	30	250	
Drying 2	130	15	30	250	
Pyrolysis	1100	10	20	250	
Atomization	2500	0	8	0	X
Clean out	2600	1	5	250	
Cool down	20	1	10	250	
Clean out	2600	1	5	250	

Tabelle B.4: Temperaturprogramm für Calcium-Messungen mit AAS.

Step	Temp.	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Read
	°C	s	s	ml/min	
Drying 1	110	1	30	250	
Drying 2	130	15	30	250	
Pyrolysis	1300	10	20	250	
Atomization	1900	0	5	0	X
Clean out	2450	1	3	250	

Tabelle B.5: Temperaturprogramm für Mangan-Messungen mit AAS.