

## **Planerad metodmodifikation klorofyll årsskiftet 2014/2015**

Geokemilaboratoriet vid Institutionen för vatten och miljö, vid Sveriges Lantbruksuniversitet i Uppsala analyserar klorofyll enligt svensk standard SS028146-1. Klorofyllpigmenten extraheras med aceton genom att filter med växtplankton blöts upp i aceton och sedan homogeniseras med teflonstöt och sedan får stå i aceton mörkt i kylskåp under en natt innan analys sker nästföljande dag.

Av både arbetsmiljömässiga och kvalitativa skäl överväger SLU att tillämpa en metodmodifikation som tillämpats under lång tid vid Erkenlaboratoriet vid Uppsala Universitet. Tester vid både Erkenlaboratoriet och vid SLU visar att homogeniseringssteget kan ersättas med ett enklare hanteringssätt då filtrena endast läggs ned i ett rör med aceton utan homogeniseringssteget.

### Arbetssteget som ska ersättas

Homogeniseringssteget utförs med roterande teflonstöt som sänks ner i provröret och som mosar sönder filterpappret. Stöten roteras av en kraftig homogenisator, rören måste under hela proceduren hållas av personalen och vinklas fram och tillbaka för så att homogeniseringsstaven kan mosa sönder filtret på ett jämt och någorlunda reproducerbart sätt.

### Arbetsmiljömässiga problem med arbetssteget

För homogeniseringen krävs en mycket kraftig motor, rotationsrörelsen från motorn fortplantar sig genom stöten och genererar kraftiga vibrationer och skakningar i personalens händer och armar. Vibrationer som dessa kan ge bestående nervskador i handen, s.k. "vita fingrar symtom". Genom åren har det av personalen påpekats att arbetsmiljön vid klorofyllanalysen upplevs ohälsosam och behöver förbättras, framförallt på grund av vibrationsproblemet. Flera olika motorer har testats men arbetsmiljön har inte kunnat förbättras.

I en systematisk arbetsmiljöundersökning som genomfördes 2013 av företagshälsovården (Länshälsan) i enlighet med arbetsmiljöverkets föreskrifter (AFS 2001:11 Arbetsmiljöverkets föreskrifter om systematiskt arbetsmiljöarbete) lyftes frågan igen. Det konstaterades att arbetsförhållanden förelåg vid analysmetoden som medför risk för att någon kan komma att drabbas av ohälsa i arbetet.

För att skydda personalen från framtida hälsoskador är det därför nödvändigt att ersätta homogeniseringen med ett mindre hälsofarligt arbetsmoment.

### Kvalitativa problem med arbetssteget

Homogeniseringssteget kan antas vara personberoende (hur kraftigt röret pressas mot stödet, hur mycket och hur ofta röret vinklas) och är svårt att reproducera. Hur stor del av mätosäkerheten som beror av just den personberoende homogeniseringen är svårt att uppskatta, men den upplevs som en bidragande faktor till osäkerhet och variation i analysdata.

Vid homogeniseringen är det viktigt att sluta processen i tid så att inte provet hettas upp. Ibland är filtrena svåra att homogenisera och då kan provet av misstag bli varmt vilket kan leda till att klorofyllet bryts ned. Av kvalitativa skäl känns det därför också önskvärt att bli av med arbetsmomentet och dess felbidrag.

## Testupplägg

Tester har gjorts dels på en algkultur med grönalger och dels på naturligt vatten. Algkulturen, som provtogs vid två olika tillfällen, bestod av släktena *Mougeotia*, *Spirogyra* och *Stichococcus*, samt obestämda grönalger som tillhör ordningen Chlorococcales. Totalt nio prover med naturligt vatten samlades in från fem sjöar (Edasjön, Vendelsjön, Hemfjärden i Hjälmaran, Siggeforasjön och Ekoln i Mälaren). Ett prov samlades in på hösten, tre prov på våren och fem prov på sommaren. Från varje prov filterades fem filter som homogeniserades enligt standard och fem filter som inte homogeniserades.

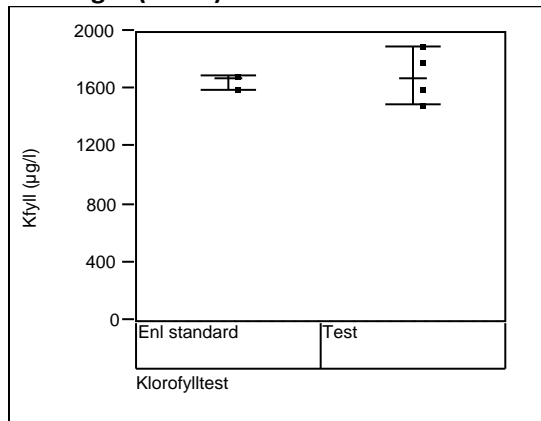
## Resultat

Resultaten från algkulturen visade på god samstämmighet mellan homogenisering och icke-homogenisering (tabell 1 och figur 1). En statistisk analys visar att det inte finns någon statistiskt signifikant skillnad mellan metoderna och att interaktionen mellan prov och metod inte heller är signifikant (faktoriell ANOVA efter transformering av klorofylldata för att göra varianserna lika; hela modellen:  $r^2=0,997$ ,  $p<0,0001$ , prov:  $p<0,0001$ , metod:  $p=0,88$  prov  $\times$  metod:  $p=0,96$ ).

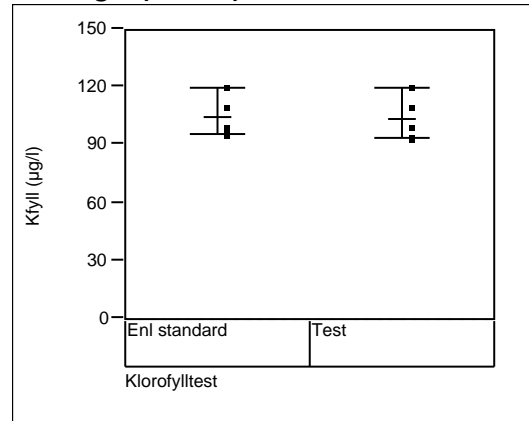
Tabell 1: Resultat från test med homogenisering enligt standard respektive utan homogenisering av klorofyllfiltrena (medel av fem filter). Skillnaden mellan metoderna: minusvärden visar på lägre värden utan homogenisering.

Prov	Metod	Medel (kfyll $\mu\text{g/l}$ )	CV(%)	Skillnad (%)
Grönalger (25 ml)	Enligt standard	1680	2,7	0
	Test	1680	9,8	
Grönalger (250 ml)	Enligt standard	104,8	9,6	-1,0
	Test	103,8	10,6	

Grönalger (25 ml)



Grönalger (250 ml)



Figur 1: Resultat från test med homogenisering enligt standard respektive utan homogenisering av klorofyllfiltrena (5 filter av vardera).

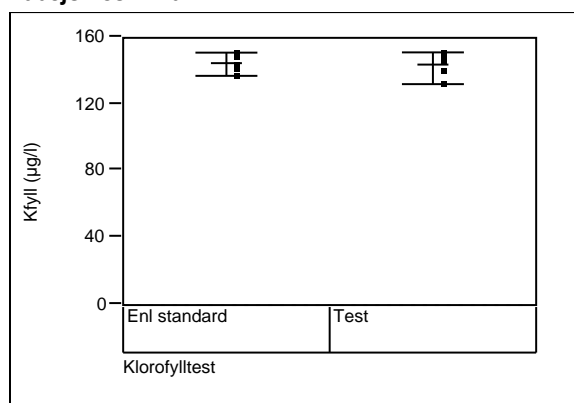
Resultaten från de naturliga proven visade också på god samstämmighet mellan metoderna (tabell 2 och figur 2). En statistisk analys visar att det inte finns någon statistiskt signifikant skillnad mellan metoderna och att interaktionen mellan prov och metod inte heller är signifikant (faktoriell ANOVA efter transformering av klorofylldata för att göra varianserna lika; hela modellen:  $r^2=0,997$ ,  $p<0,0001$ , prov:  $p<0,0001$ , metod:  $p=0,44$ , prov  $\times$  metod:  $p=0,12$ ).

Ett enskilt t-test på Hemfjärden gav signifikant skillnad mellan metoderna ( $t=0,0247$ ). Det fanns ingen systematisk trend i ordningen som provet filtrerats. Prov från Hemfjärden filtrerades om och testet visade den gången inte på signifikant skillnad ( $t=0,1027$ ).

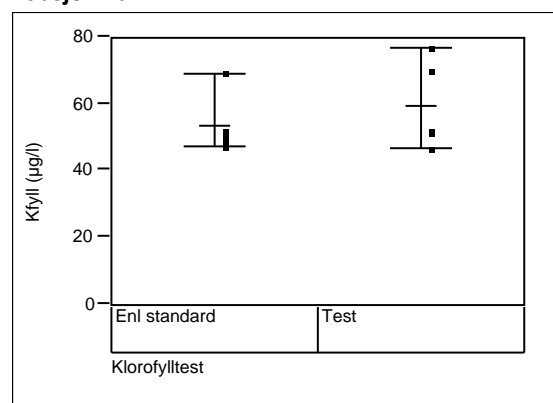
Tabell 2: Resultat från test med homogenisering av klorofyllfiltrena enligt standard respektive utan homogenisering (medel av fem filter). Skillnaden mellan metoderna: minusvärden visar på lägre värden utan homogenisering. Kursiv stil: Spridningen av de fem filtrena var högre än mätosäkerheten (16%).

Prov	Datum	Metod	Medel (kfyll $\mu\text{g/l}$ )	CV(%)	Skillnad (%)
Edasjön sommar		Enligt standard	144,8	3,8	-0,6
	2014-08-18	Test	144,0	5,0	
Edasjön vår		Enligt standard	53,7	16,5	10,5
	2014-04-24	Test	59,6	22	
Ekoln höst		Enligt standard	14,4	2,9	6,9
	2013-10-01	Test	15,5	1,6	
Ekoln sommar		Enligt standard	47,8	8,5	-3,1
	2014-08-05	Test	46,4	3,9	
Ekoln vår		Enligt standard	1,0	28,7	-18,1
	2014-04-03	Test	0,8	5,8	
Hemfjärden sommar		Enligt standard	150,8	3,8	-10,4
	2014-08-21	Test	135,8	4,2	
Hemfjärden sommar igen		Enligt standard	134,3	1,7	-4,3
	2014-08-21	Test	128,7	4,3	
Siggefora sommar		Enligt standard	6,4	1,3	-0,7
	2014-07-25	Test	6,4	2,4	
Vendelsjön sommar		Enligt standard	5,1	9,6	0,6
	2014-08-18	Test	5,1	11,2	
Vendelsjön vår		Enligt standard	14,8	8,1	2,0
	2014-04-15	Test	15,1	4,5	

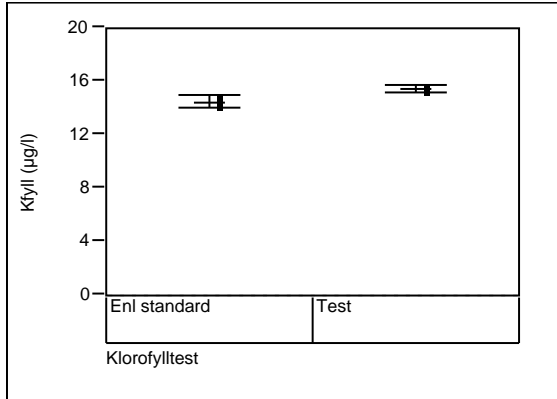
Edasjön sommar



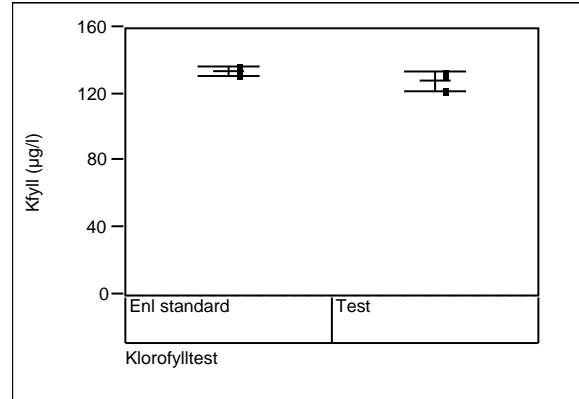
Edasjön vår



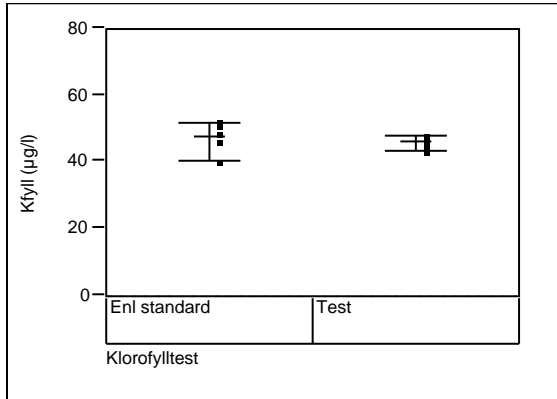
**Ekoln höst**



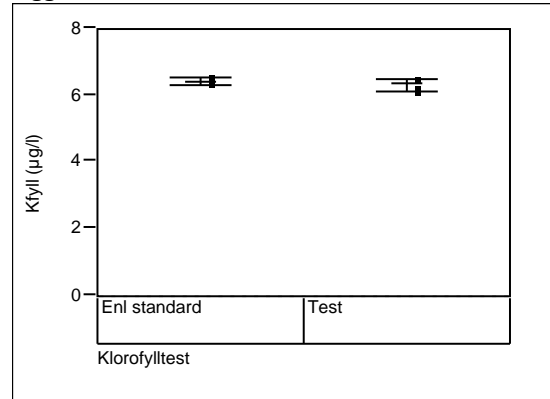
**Hemfjärden sommar igen**



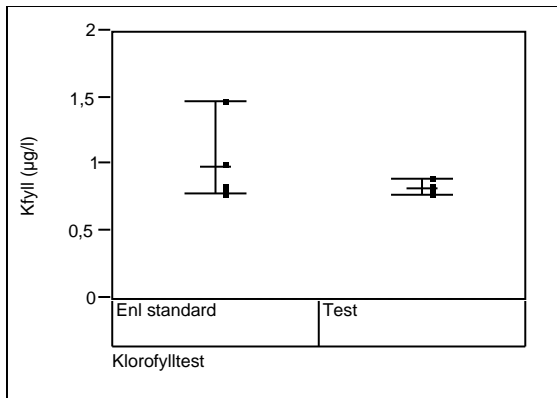
**Ekoln sommar**



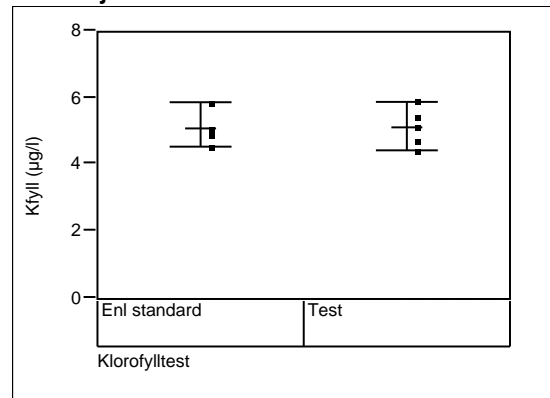
**Siggefora sommar**



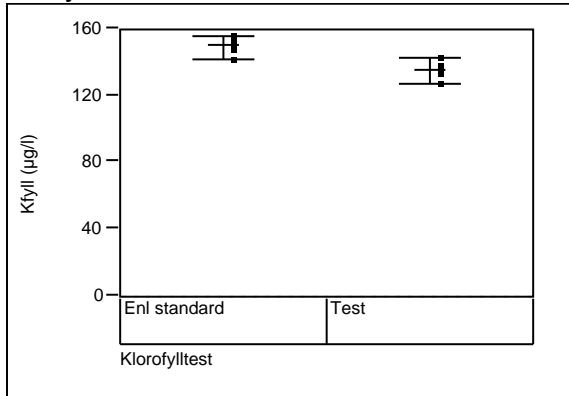
**Ekoln vår**



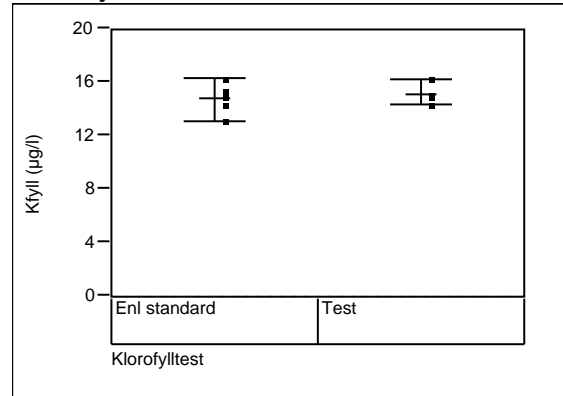
**Vendelsjön sommar**



**Hemfjärden sommar**

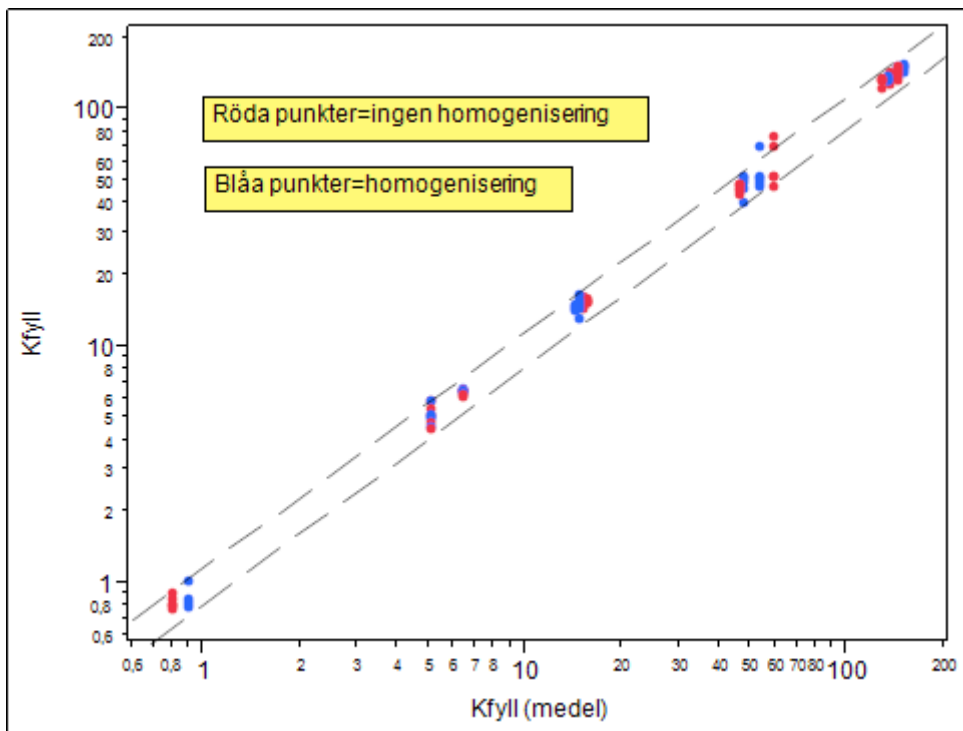


**Vendelsjön vår**



Figur 2: Resultat från test med homogenisering av klorofyllfiltrerna enligt standard respektive utan homogenisering (5 filter av vardera).

Spridningen av de fem filtrena inom ett test ligger inom mätosäkerheten i de flesta fallen (figur 3). Ingen tydlig skillnad i spridningen syns mellan de filter som homogeniserats och de filter som inte homogeniserats (figur 3 och tabell 2).



Figur 3: Den uppmätta klorofyllhalten från ett enskilt filter plottat mot medelkoncentrationen av de fem filtrena från ett prov och tillvägagångssätt (homogenisering eller icke-homogenisering). x- och y-axel i logaritmisk skala. Den streckade linjen = metodens mätosäkerhet

## **Diskussion**

Klorofyllanalysen uppvisar en hög mätosäkerhet (16%). Förhoppningen att en ändring i metoden, som tar bort ett personberoende arbetsmoment, skulle minska på mätosäkerheten infriades inte. Metodbytet skulle alltså inte innebära någon kvalitativ förbättring med avseende på att homogeniseringssteget är svårt att reproducera.

Samtidigt visar resultaten inte på en ökad risk för någon form av kvalitativ försämring. Resultatskillnaderna mellan de två undersökta metoderna ligger för de allra flesta prov med god marginal inom metodens mätosäkerhet. Kvalitativt kan metoderna anses leverera kvalitativt likvärdiga analysresultat. Ett metodbyte kommer med stor sannolikhet inte resultera i något avbrott i tidsserierna.

Även om en ändring av metoden eventuellt skulle kunna innebära något lägre halter av ett prov liknande Hemfjärden så kommer det inte påverka statusklassningen av en sådan sjö. Halten ligger långt ovanför halten då kompletterande växtplanktonanalys behövs göras för att verifiera statusklassningen (statusklassning handbok 2007:4).

Geokemilaboratoriet medverkade 2012 i en provningsjämförelse för klorofyll. Jämförelsen visade tydligt att spridningen i klorofyll mellan de tio medverkande laboratorierna var stor (resultaten varierade mellan 2,34-6,29 för prov 1 och 3,23-9,61 för prov 2). Det fanns ingen systematisk skillnad beroende på vilken metod som användes (acetone, metanol eller etanol). Den ändring i metod som SLU planerar skulle således inte förändra något vid jämförelse av resultat med andra laboratorier. Osäkerheten inom labb är betydligt lägre än mellan labb.

## **Rekommendation**

Resultaten ovan visar att det inte finns något hinder för SLU att åtgärda arbetsmiljöproblemet för att åstadkomma en mer hälsosam och riskfri arbetsmiljö vid klorofyllanalysen och på så sätt leva upp till sitt arbetsgivaransvar. Vi rekommenderar därför att laboratoriet från och med provtagningsåret 2015 övergår till ovan beskrivna klorofyllanalys utan mekanisk homogenisering.

Uppsala 2014-10-02

Christian Demandt  
Laboratoriechef

Karin Wallman  
Biträdande laboratoriechef