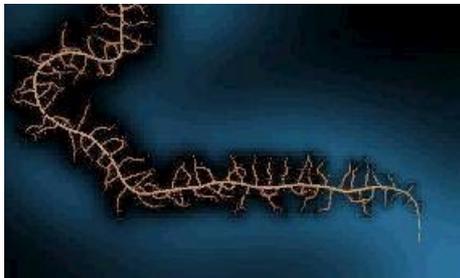


Rhizosphäre, UE +VO 5 Stunden, 7 ECTS-Punkte

Gert Bachmann, Franz Hadacek, Karoline Uteseny



Lehrziele

Die Übung vermittelt systemökologische Kenntnisse über Schlüsselorganismen und deren Aktivitäten im stark durchwurzelten Bodenbereich. Dabei werden chemisch-analytische Techniken der Bodenökologie (Metabolic Profiling, Bioactivity Monitoring) sowie die statistische Aufbereitung der Resultat vermittelt und praktisch erarbeitet.

Was wird untersucht?

Die Rhizosphäre ist das Mikrohabitat im Wurzelraum. Im Fokus der Übung sind Schleime in ihrer Funktion als Matrix der Interaktion zwischen den Organismen. Sie sind an den Wurzelspitzen und im wurzelnahen Bereich lokalisiert und beinhalten niedermolekulare organische Verbindungen in verschiedenen Stadien der Polymerisation. Weiters binden sie Wasser und Ionen und bilden somit auch die Matrix für enzymatische Aktivitäten. Wir werden in den Böden unter verschiedenen Pflanzen mit diversen Extraktionsmethoden, biochemischen Messungen und eventuell elektrochemischen Analysen eine Charakterisierung der Wurzelschleime und ihrer Bewohner durchführen.

Modellsysteme

Solanum lycopersicum

(Allelopathie, schwachlichtresistent)

Medicago truncatula

(Bodenminierer, N-Fixierung, Pionier)

Saccharum sativum

(C4-Pflanze, mehrjährig)

Arabidopsis thaliana

(genomischer Modellorganismus, Frühjahrsannuelle)

Nematoden

Im Rahmen des Praktikums sollen die Gemeinschaften der bakterivoren und fungivoren Bodennematoden in Abhängigkeit vom Abstand zur Pflanzenwurzel dokumentiert werden. Da sich in der unmittelbaren Nähe von Wurzeln durch die Absonderung von Inhaltsstoffen ein reiches Bakterienleben entwickelt, sollte es zu einer höheren Abundanz von Bakterienfressern in dieser Zone kommen. In größerem Abstand zur Pflanzwurzel sollten Pilzfresser größere Bedeutung erlangen. Diese Hypothesen sollen durch gängige nematologische Methoden geprüft werden.

Collembolen

Ein weiteres Ziel des Praktikums ist die Untersuchung euedaphischer Collembolen in- und außerhalb der Rhizosphäre der Untersuchungspflanzen. Neben der Erhebung der Individuendichte werden die Arten und ihre ökologische Relevanz in diesen Bereichen ermittelt. Ein Schwerpunkt wird dabei auf Wechselwirkungen zwischen den abiotischen und biotischen Bodenfaktoren gelegt.

Wurzelexudate

Von allen Pflanzen sollen Wurzelexudate gewonnen werden. Die gewonnenen Exudate werden in eine wasserlösliche (hydrophile) und wasserunlösliche (lipophile) Fraktion aufgetrennt. In ersterer sollen Zucker, organische Säuren sowie Aminosäuren analysiert werden, in zweiterer Sekundärmetabolite. Die hydrophilen Wurzelschleimkomponenten liegen in erster Linie als Polymere vor und müssen daher hydrolysiert werden. Ziel der Analysen ist, die Qualität und Quantität der exudierten Kohlenstoffverbindungen in Bezug zu den anderen im Praktikum erhobenen Parametern zu stellen.

Bodenatmung

Als Maß der aeroben metabolischen Bioaktivität wird die Bodenatmung aller Blumentöpfe mittels Infrarotgasanalyse (IRGA) bestimmt, und zwar ohne Zusatz (Grundatmung, Basalrespiration: BR) als auch mit Substratzusatz (SIR).

BIOLOG

Die Voranpassung der mikrobilen Populationen der Böden hinsichtlich ihrer Substratpräferenz wird mittels einer modifizierten Dehydrogenaseaktivitätsuntersuchung bei Zusatz niedermolekularer Substrate in Mikrotiterplatten untersucht.

Urease/Deaminase

Die Remineralisierung von Stickstoff wird in Böden zu einem substanziellen Teil von Deaminasen wahrgenommen, welche Ammoniumreste von anderen organischen Molekülen wie Harnstoff oder Aminosäuren abspalten. Die Harnstoffdeaminierung gestattet Rückschlüsse auf die Bioaktivität der Mesofauna im Boden.

pH-Wert

Als zentraler begrenzender abiotischer Faktor im Boden wird der pH Wert sowohl im Wasserextrakt (aktuell) als auch nach Zusatz von CaCl_2 (potenziell) untersucht. Die Differenz der beiden Werte ergibt die aktuelle Kationenaustauschkapazität.

Metallkationen

In den Wasserextrakten werden auch die Kaliumionen bestimmt, um Rückschlüsse auf die aktive Exudation von Saccharose in den Boden zu ermöglichen.

Programm (26.4.-6.5. 2010)

	Datum	Tagesziele:
Mo	04/26/2010	Probenvorbereitung
Di	04/27/2010	Exudatfraktionierung, Atomabsorption, BIOLOG
Mi	04/28/2010	Exudatfraktionierung, Enzymassays, Bodenatmung
Do	04/29/2010	Probenvorbereitung Chromatographie, Bodenatmung
Fr	05/30/2010	-
Sa	05/01/2010	-
So	05/02/2010	-
Mo	05/03/2010	Zoologie1
Di	05/04/2010	Zoologie2
Mi	05/05/2010	Ausrechnung, Auswertung
Do	05/06/2010	Auswertung, Statistik, Endbesprechung

Messparameter und Probenvorbereitung

Analyt/Parameter	Probe	Probenvorbereitung	Analyse
Primärmetabolite	Wurzelexudat	Wurzelwaschung	GC-MS
Sekundärmetabolite	Wurzelexudat	Wurzelwaschung	HPLC-UV
pH-Wert	Rhizosphärenerde	Heißwasserextrakt, KCl	pH-Messung
BIOLOG	Rhizosphärenerde	Ringer-Extrakt	Mikrotiterplatte, Photometer
Bodenatmung (BR,SIR)	Rhizosphärenerde	Frischboden 2mm	IRGA
Deaminase/Urease	Rhizosphärenerde	Frischboden 2mm	Photometer
Metall	Rhizosphärenerde	Wasser/Säureextrakt	Atomabsorption

Probenvorbereitung

Wurzelexudatgewinnung

Je nach Größe werden 3-5 Pflanzen sorgfältig von der Erde befreit und die Wurzeln gründlich mit Leitungswasser gewaschen. Die Pflanzen werden dann für 6 Stunden in eine Pufferlösung (Acetatpuffer, pH=5,5) gestellt (in einem Glasgefäß). Die Exudatlösung wird dann abfiltriert und bis zur weiteren Aufarbeitung tiefgefroren.

Siebung und Lagerung der Böden

Mischproben werden mit einem Bodensieb zuerst grob (5 mm) und danach fein (2 mm) gesiebt. Nach dem Sieben werden verbliebene Wurzelstücke entfernt, die Böden in Plastiksäcke abgefüllt und bei 4°C im Kühlraum gelagert. Sollte zwischen der Aufsammlung der Böden und den Analysen mehr als 4 Wochen vergehen, ist es notwendig die Böden tief zu frieren. In diesem Fall sollten die Böden mindestens 48 Stunden vor der Probennahme bei 4°C aufgetaut werden.

Bodenextrakt für pH Messung

Etwa 3 g gesiebter, luftgetrockneter oder naturfeuchter Boden wird mit jeweils 20 mL Aqua dest. und 7,5 ml 0,1 N CaCl_2 versetzt und 12 h bei Zimmertemperatur inkubiert und dabei geschüttelt. Diese Extrakte werden direkt für die Messung des pH-Wertes eingesetzt.

RINGER-Extrakt für BIOLOG

1 g Boden wird in 10 mL Ringerlösung (2,25 g NaCl, 0,105 g KCl, 0,12 g CaCl_2 , 0,05 NaHCO_3 pro 1 L Aqua dest) geschüttelt und 1 min bei 500 U/min zentrifugiert.

Metall-Kationen

Heißwasserextrakte: In Greiner-Cups werden wässrige Verdünnungen von 1:20 und 1:200 angesetzt, die 0.1% CsCl enthalten.

Säure-Extrakte: In Greiner-Cups werden die Extrakte 1:100 mit 1N HCl in 0.1% CsCl verdünnt.

Es werden jeweils 3 Wiederholungen/Probe angefertigt.

Chromatographische Analyse der Wurzelexudate

Fraktionierung in eine lipophile und hydrophile Fraktion

Die Fraktionierung der Wurzelexudate wird in Glassäulen mit in MQ Wasser aufgeschlammten **Amberlit XAD 1180** durchgeführt. Das Exudat diffundiert durch die stationäre Phase der Säule. Dabei absorbieren lipophile Analyten an der stationären Phase, die hydrophilen Analyten bleiben in Lösung. Die Säulen werden noch mit einer kleinen Menge MQ Wasser gewaschen und dann werden die lipophilen Bestandteile mit absolutem Ethanol eluiert (ca. 50 mL).

Probenvorbereitung der hydrophilen Analyten (GC-MS)

Die gefriergetrocknete Wasserphase (ca. 10 mg) wird in Autosampler Vials transferiert (notfalls in Methanol gelöst und am Speedvac getrocknet). Die hydrophilen Wurzelschleimkomponenten liegen zum größten Teil als Polymere vor und müssen daher mit 100 µL 10%-iger Salzsäure hydrolysiert werden. Die Hydrolyse erfolgt 1 h bei Raumtemperatur. Danach wird am Speedvac über Nacht getrocknet. Die getrockneten Proben werden 50 µL Hydroxylaminlösung überschichtet und 1 h bei 70°C temperiert. Dann wird mit 50 µL MSTFA (*N*-Methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamid) in Trimethylsilylester derivatisiert. Die 100 µL werden in spezielle Mikroinsätze transferiert. Die Analyse erfolgt mittels Gaschromatographie-Massenspektroskopie.

Probenvorbereitung der lipophilen Analyten

Die Ethanolphase wird am Rotavapor eingeengt und in Autosampler Vials transferiert. Diese werden am SpeedVac getrocknet und adäquat (10 mg/mL) in Methanol:Wasser:Essigsäure (1:1:0,01, v/v/v) gelöst. Die Analyse erfolgt mittels Flüssigchromatographie-UV-Spektroskopie.

Chemikalien

Ethanol absolut

Hydroxylamin (20 mg/mL in Pyridin)

MSTFA (*N*-Methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamid)

30% HCl

30% KOH

Methanol

Essigsäure

MQ (MilliQ) Wasser

Amberlit XAD1180

pH-Wert

Der pH-Wert (negativer Logarithmus der H^+ -Konzentration) ist ein Maß für die Menge der frei in Lösung vorliegenden Protonen. Man spricht beim pH-Wert auch von der *aktuellen Azidität*. Zur Erfassung der *potentiellen Azidität* hingegen wird ein Extrakt mit Lauge bis etwa pH 9 titriert, um auch solche Protonen zu erfassen, die bei physiologischen pH-Werten nicht in dissoziierter Form vorliegen, bei Böden werden die Proben anstatt mit Wasser mit 0,1 N $CaCl_2$ extrahiert.

Durchführung

60 μ l des Extrakts werden mit einer Kolbenhubpipette aufgenommen und auf die Messoberfläche einer ISFET (Ionen Sensitiver Feld Elektronen Transistor)-Elektrode pipettiert. Bodenextrakte sollten über Nacht abstehen, da aufgeschlämmtes Sediment die pH-Messung empfindlich beeinflussen kann.

Chemikalien

0,1 N $CaCl_2$

Lauge

BIOLOG

Eine modifizierte Dehydrogenasereaktion mit TTC (Triphenyltetrazoliumchlorid) als Substrat wird benutzt, um eine Mikroorganismensuspension auf potentielle Nutzung von niedermolekularen organischen Substraten zu überprüfen. Der Test wird in Mikrotiterplatten durchgeführt, die bereits Chemikalien für den DHA Test sowie Spuren und Nährelemente enthält. Der Extrakt und die C-Quellen (niedermolekularen Substrate) werden in die Plattenvertiefungen pipettiert und die Farbentwicklung von TTC zu TPF (Triphenylformazan) im Photometer in gleichbleibenden Intervallen(6-12) Stunden nachgemessen.

Durchführung

Der Extrakt wird mit Ringerlösung 100-fach verdünnt, 100 µl des verdünnten Extraktes werden gemeinsam mit 60 µl Substratlösung in die Vertiefungen der Mikroplatte pipettiert. Dabei sollen die Platten so oft als möglich mit dem Deckel gegen Kontamination geschützt werden. Im Vorfeld muß ein Plattenlayout entworfen, dass als Dokumentation zum Versuch beigelegt werden muss. Die Platten werden bei 25°C inkubiert und sofort sowie alle 12 Stunden bei **542 nm** im Mikrotiterplatterleser vermessen. Leerwerte zur Kontrolle von Kontaminationen: 160µL Aqua dest., 160µl Ringerlösung, Substrat in Aqua destr.

Chemikalien

Substrate (0,5% Lösung in Aqua dest.):

Asparagin, Serin, Malat, Citrat, Glukose, Saccharose, Galaktose, Zimtsäure/Malat (10:1)

Layout der BIOLOG Platten

Platte 1		I	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
asn	A		solan1	solan2	solan3	medic1	medic2	medic3	sacch1	sacch2	sacch3	at1	at2	at3
ser	B		solan2	solan3	solan4	medic2	medic3	medic4	sacch2	sacch3	sacch4	at2	at3	at4
malat	C		solan3	solan4	solan5	medic3	medic4	medic5	sacch3	sacch4	sacch5	at3	at4	at5
citrat	D		solan4	solan5	solan6	medic4	medic5	medic6	sacch4	sacch5	sacch6	at4	at5	at6
gluc	E		solan5	solan6	solan7	medic5	medic6	medic7	sacch5	sacch6	sacch7	at5	at6	at7
sach	F		solan6	solan7	solan8	medic6	medic7	medic8	sacch6	sacch7	sacch8	at6	at7	at8
galac	G		solan7	solan8	solan9	medic7	medic8	medic9	sacch7	sacch8	sacch9	at7	at8	at9
zimsre+mal	H		solan8	solan9	solan10	medic8	medic9	medic10	sacch8	sacch9	sacch10	at8	at9	at10

Platte 2		II	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
asn	A		solan1	solan2	solan3	medic1	medic2	medic3	sacch1	sacch2	sacch3	at1	at2	at3
ser	B		solan2	solan3	solan4	medic2	medic3	medic4	sacch2	sacch3	sacch4	at2	at3	at4
malat	C		solan3	solan4	solan5	medic3	medic4	medic5	sacch3	sacch4	sacch5	at3	at4	at5
citrat	D		solan4	solan5	solan6	medic4	medic5	medic6	sacch4	sacch5	sacch6	at4	at5	at6
gluc	E		solan5	solan6	solan7	medic5	medic6	medic7	sacch5	sacch6	sacch7	at5	at6	at7
sach	F		solan6	solan7	solan8	medic6	medic7	medic8	sacch6	sacch7	sacch8	at6	at7	at8
galac	G		solan7	solan8	solan9	medic7	medic8	medic9	sacch7	sacch8	sacch9	at7	at8	at9
zimsre+mal	H		solan8	solan9	solan10	medic8	medic9	medic10	sacch8	sacch9	sacch10	at8	at9	at10

Infrarot-Gasanalysator IRGA - basale und substratinduzierte Bodenatmung (BR und SIR)

Heterogene Gase absorbieren Infrarotstrahlung, wobei die absorbierte Energie im betroffenen Molekül Schwingungen in allen Raumrichtungen bewirkt. Für die betroffenen Moleküle bedeutet dies eine Temperaturerhöhung. In einem geschlossenen Gefäß wird dadurch eine Druckzunahme bewirkt (Gasgesetz von Gay-Lussac). Beim URAS (deutsch: URAS, Ultra-Rot-Absorptionsschreiber) werden ein CO₂- freies Referenzgas und zu messende Gase gleichzeitig einer bestimmten Intensität Infrarotstrahlung ausgesetzt. Je nach Konzentration der Gase wird unterschiedlich viel Infrarotlicht absorbiert. Die nicht absorbierte Rest- Infrarotstrahlung gelangt in einen Detektor. Dieser besteht aus einer abgeschlossenen CO₂-gefüllten Kammer, welche durch eine Membran zweigeteilt ist. Durch diese Konstruktion treten Druckunterschiede auf, welche elektronisch ausgewertet und in ppm CO₂ angezeigt werden. Auf diese Weise wird die CO₂ Entwicklung in Böden als sogenannte basale, aerobe Bodenrespiration (BR) erfasst. Diese kann als Maß für die lebende mikrobielle Biomasse herangezogen werden, da sie im Verhältnis der zu atmenden Biomasse steht. Wird dem Boden ein Substrat zugesetzt (z. B. Glukose), kann die derart zusätzlich stimulierte CO₂-Freisetzung des Bodens als „Substrat stimulierte Bodenatmung“, die mit der maximal möglichen Aktivität der lebenden mikrobieller Biomasse zusammenhängt (Substrat induzierte Respiration- SIR) gemessen werden.

Durchführung

SIR: 30-50 g auf 2 mm gesiebter Boden wird im Tiefkühlbeutel (Becherglas) eingewogen und mit 0,2 % Zucker- oder 0,6% Aminosäurelösung versetzt (separat einwiegen!) und gut gemischt (im Plastiksack durch Aufblasen des Beutels mit anschließendem Schütteln). Dieses Gemisch wird in Küvetten gefüllt, deren untere Öffnung mit einer Schicht Zellstoff bedeckt ist. Wird nur die Bodenatmung bestimmt, unterbleibt die Glukosezugabe. Die Küvetten werden nun bei einer Raumtemperatur von 25°C kontinuierlich mit CO₂-freier Luft gespült (etwa 6 L/h, "offener Kreislauf") und die CO₂-Konzentration alle 30 min mit dem URAS gemessen. Zur Auswertung gelangt der jeweils niedrigste (nach etwa 3-6 h) erreichte Wert. Bei der Bodenrespirationsmessung unterbleibt die Substratzugabe.

Berechnung der Ergebnisse

Die Messwerte werden in mg CO₂/h/100 g Boden Frisch- oder Trockenmasse nach folgender Formel (unter Berücksichtigung der Avogadro-Konstante 24 L Gas per Mol unter Normalbedingungen) umgerechnet:

$$\begin{array}{l}
 \text{mg/L} / 10e6 * \text{flow} * 10e3 \\
 (\text{c}[\text{ppM}] / 10e6 * \text{flow}[\text{L/h}] * 10e3 / \text{weight} * 10e3 / * 1,96
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{l}
 \text{mL CO}_2 \text{ in der Probe pro Stunde} \\
 \text{mg CO}_2 / \text{kg Boden}
 \end{array}$$

$$x = \frac{c * f * 1.000 * 1.000}{1.000.000 * w} * 1,96
 \qquad
 x = \frac{f * c}{w} * 1,96$$

x : mL CO₂ /kg FW * h
 f : air flow rate (L / h)
 c : CO₂ - concentration (mg/L)
 w : weight of the soil sample (g)

In einem Koordinatensystem wird auf der X-Achse die Zeit und auf der Y-Achse die CO₂-Konzentration aufzutragen. Die erhaltenen Kurven informieren hinsichtlich BR, SIR und relativer Induktion (Response: SIR–BR in % BR = RESP).

Deaminase/Urease

Ammonium wird aus KCl-Extrakten mit einer modifizierten Berthelot-Reaktion bestimmt. Die Bestimmung basiert auf der Reaktion von Natriumsalicylat mit NH_3 in Anwesenheit von Natriumdichloroisocyanursäure. Im alkalischen Milieu wird dabei ein grüner Farbkomplex gebildet. Natriumnitropussid wirkt dabei als Katalysator und steigert die Empfindlichkeit der Reaktion.

Durchführung

Vollproben: 2 g naturfeuchter Boden wird in zwei 50 ml Erlenmeyer-Enghalskolben eingewogen, mit 1 mL Harnstofflösung befeuchtet und mit Korkstopfen verschlossen.

Inkubation: 2 Stunden bei 37°C im Brutschrank

Blindproben: 2 g naturfeuchter Boden wird in zwei 50 ml Erlenmeyer-Enghalskolben eingewogen, mit 1 mL Aqua dest. befeuchtet und mit Korkstopfen verschlossen.

Inkubation: 2 Stunden bei 37°C im Brutschrank

Während der Inkubationszeit: Herstellung der KCl-Lösung, Eichreihe

Nach 2 Stunden: 20 ml KCl wird zugegeben und 30 min geschüttelt

Filtration: 50 mL Weithalskolben mit N-freien Faltenfiltern

Assay: wird in 2 mL Eppis durchgeführt:

Kalibration: Diese erfolgt mit einer Stammlösung (3,8207 g NH_4Cl /1000 mL Aqua dest. (= 1000 mg/L N). Diese Stammlösung wird mit der KCl-Lösung verdünnt, sodass man folgende Konzentrationen erhält: 5, 10, 15, 20, 25 und 30 mg N/L. Jeweils 100 µl der unterschiedlichen Konzentrationen werden wiederum zur Farbreaktion eingesetzt. Es wird empfohlen 2 Kalibrationsreihen herzustellen.

Farbreaktion (pro Eppi): 100 µl Probe oder Eichlösung

900 µl Aqua dest.

500 µl Mischlösung

200 µl Oxidationsmittel

Die Mischung wird am Vortex geschüttelt und 30 min stehen gelassen. Danach ist die Reaktion quantitativ verlaufen und die Lösungen werden bei 660 nm gegen den Leerwert der Eichreihe vermessen. Die Auswertung erfolgt am Tecan Infinite Mikrotiterplattenleser. 250 µL Reaktionsmischung werden pro Well pipettiert. Die ersten zwei senkrechten Spalten werden mit den beiden Eichlösungen befüllt (mit ansteigender Konzentration), daneben anschließend oben die Vollproben und darunter die Blindproben.

Auswertung:

$$\frac{(VP - BP) \cdot 22 \cdot 100}{2 \cdot \%TS \cdot 2h} = x \mu\text{g N} \cdot \text{g TS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$$

VP

Mittelwert Extinktionen der Vollprobe

LP

Mittelwert Extinktionen der Leerprobe

$y = kx + d$

Eichgerade

% TS

Trockensubstanzfaktor (TS in % FG)

Chemikalien

Mischlösung: 0,3 N NaOH/Natriumsalicylat-Lösung/Aqua dest (1:1:1)

Na-Salicylat-Lösung: 17 g Natriumsalicylat und 120 mg Natriumnitroprussid-Natrium werden in 100 mL Aqua dest. gelöst.

Oxidationsmittel: 0,1 g Dichlorisocyanursäurenatriumsalz in 100 mL Aqua dest. lösen (täglich frisch zubereiten)

Substratlösung: 2,4 g Harnstoff in 500 mL

KCl

Metall-Kationen mit Atomabsorptions- Spektralphotometrie (AAS)

Die Analysenlösung wird über ein entsprechendes Zerstäubersystem in eine Flamme eingebracht (Standardflamme: Luft-Acetylen, Spezialflamme für Ca-Bestimmung: Lachgas-Acetylen). Das zu bestimmende Element wird in der Hitze (ca. 2300 °C) atomisiert. Durch die Flamme wird gleichzeitig das Licht einer Hohlkathodenlampe geschickt. Dabei handelt es sich um Gasentladungslampen, deren hohl-zylindrische Kathode aus dem Material des Messelementes besteht, und die daher intensiv gebündelte, elementspezifische Strahlung abgeben (=Resonanzfrequenz des entsprechenden Metalls, z.B. die Natriumdampflampe). Die freien Atome in der Flamme absorbieren nun Licht der Hohlkathodenlampe und gehen dabei in den "angeregten Zustand" über, d.h. ihr(e) Valenz)elektron(en) bzw. -elektronensysteme nehmen einen Zustand höherer Energie ein. Die dabei eintretende Schwächung des Hohlkathodenlampen-Lichts kann als Messsignal registriert werden. Wenn man sich nun die Flamme als Küvette denkt und die Hohlkathodenlampe als Strahlungsquelle, so hat man den Apparate-Typus des Photometers vor sich: die gemessene Extinktion ist als analytisches Maß der Konzentration der freien Atome in der Flamme – und damit der Konzentration der Metallionen in der Analysenlösung – direkt proportional. Der Monochromator steht dabei auf der Resonanzfrequenz. Für die einzelnen Elemente, besonders für die mit komplexeren Elektronenhüllen, gibt es meist mehrere Resonanzfrequenzen, die für die analytische Praxis genutzt werden können. Die stark unterschiedliche Messempfindlichkeit (über mehrere 10er-Potenzen) bei den einzelnen Spektrallinien hängt von deren Strahlungsintensität ab: Verwendung der intensiven Hauptlinien erlaubt stets die empfindlichsten Messungen. Das System muss wie jede spektralphotometrische Methode mit Standardlösungen bekannter Konzentration kalibriert werden. Bei der Bestimmung von Elementen, die ihre Valenzelektronen leicht verlieren (z.B. K^+ und Ca^{2+}), muss der Messlösung, wie auch der Standardlösung, Cäsium als sogenannter "Ionisationspuffer" hinzugefügt werden, damit die "thermische Ionisation" der Atome verhindert wird.

Durchführung

Herstellung der Standardlösungen aus 1000 mg/L Stammlösungen (bzw. 100 mg/L Zwischenverdünnungen). In den Standardlösungen lassen sich zur Vereinfachung alle 4 Elemente kombinieren; jeweils 100 mL ansetzen. Die Konzentration an CsCl soll 0.1% betragen. Zu beachten ist, dass die "Matrix" der verwendeten Eichlösungen der "Matrix" der Proben (Wasser, Säuren, Ammoniumacetat) angepasst werden muss!

mg/L	Standard 1	Standard 2	Standard 3	Standard 4
Magnesium	0,5	1,0	2,0	5,0
Calcium	1,0	2,0	5,0	10,0
Kalium	1,0	2,0	5,0	10,0
Natrium	0,5	1,0	2,0	5,0

Für Na^+ , K^+ und Mg^{2+} : Acetylen-Luft-Flamme im Mischungsverhältnis 1:3 (oxidierend)

Für Ca^{2+} : Acetylen-Lachgas-Flamme im Verhältnis 1:2 (leicht reduzierend)