

März 2024

ICS 13.060.70; 71.040.50

Deutsche Fassung

## Wasserbeschaffenheit - Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehalts durch Ethanolextraktion für die routinemäßige Überwachung der Wasserqualität

Water quality - Spectrophotometric determination of chlorophyll-a content by ethanol extraction for the routine monitoring of water quality

Qualité de l'eau - Détermination spectrophotométrique de la teneur en chlorophylle a par extraction à l'éthanol pour la surveillance de routine de la qualité de l'eau

Dieser Europäische Norm-Entwurf wird den CEN-Mitgliedern zur formellen Abstimmung vorgelegt. Er wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 erstellt.

Wenn aus diesem Norm-Entwurf eine Europäische Norm wird, sind die CEN-Mitglieder gehalten, die CEN-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist.

Dieser Europäische Norm-Entwurf wurde von CEN in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch) erstellt. Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem CEN-CENELEC-Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevante Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

**Warnvermerk** : Dieses Schriftstück hat noch nicht den Status einer Europäischen Norm. Es wird zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt. Es kann sich noch ohne Ankündigung ändern und darf nicht als Europäischen Norm in Bezug genommen werden.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG  
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION  
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

## Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort . . . . .	4
Einleitung . . . . .	5
1 Anwendungsbereich . . . . .	6
2 Normative Verweisungen . . . . .	6
3 Begriffe . . . . .	6
4 Grundlage des Verfahrens . . . . .	7
5 Störungen . . . . .	7
6 Reagenzien . . . . .	7
7 Geräte . . . . .	8
8 Durchführung . . . . .	9
8.1 Allgemeines . . . . .	9
8.2 Probenvorbehandlung . . . . .	9
8.3 Filtration . . . . .	9
8.4 Extraktion . . . . .	9
8.5 Messung . . . . .	10
9 Qualitätssicherung . . . . .	10
9.1 Blindwerte . . . . .	10
9.2 pH-Wert nach Ansäuerung . . . . .	10
9.3 Einstellung der Wellenlänge . . . . .	11
9.4 Verhältnis A/A' . . . . .	11
10 Berechnungen . . . . .	11
11 Angabe des Ergebnisses . . . . .	12
12 Analysenbericht . . . . .	12
Anhang A (informativ) Leistungskenndaten . . . . .	13
A.1 Laborvergleichsuntersuchung in den Niederlanden . . . . .	13
A.2 Validierungsringversuch in Deutschland . . . . .	13
Anhang B (informativ) Theoretische Grundlagen . . . . .	16
B.1 Bedeutung der Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehalts in Wasser . . . . .	16
B.2 Ansäuernde Extrakte . . . . .	16
B.3 Berechnung der Phaeopigmentkonzentration . . . . .	16
Anhang C (informativ) Kontrollproben . . . . .	17
C.1 Einleitung . . . . .	17
C.2 Oberflächenwasser . . . . .	17
C.3 Tiefkühlspinat-Extrakte . . . . .	17
C.4 Gefriergetrockneter Grünkohl . . . . .	17
C.5 Algenkultur . . . . .	17
Anhang D (informativ) SCOR-UNESCO ‚Bestimmung der photosynthetischen Pigmente im Meerwasser‘ . . . . .	19
D.1 Das Verfahren SCOR-UNESCO unter Verwendung chromatischer Gleichungen . . . . .	19
D.2 Leistungskenndaten und Vergleich der Verfahren . . . . .	20
D.2.1 Validierungsstudie in Frankreich . . . . .	20
Literaturhinweise . . . . .	21

## Tabellen

Tabelle A.1 — Leistungskenndaten zur Bestimmung der Chlorophyll-a-Konzentration in Wasser . . . . .	13
Tabelle A.2 — Verfahrenskenndaten für Chlorophyll-a nach DIN ISO 5725-2 . . . . .	14
Tabelle A.3 — Verfahrenskenndaten für Phaeopigment nach ISO 5725-2 . . . . .	14
Tabelle A.4 — Verfahrenskenndaten für unkorrigiertes Chlorophyll-a nach ISO 5725-2 . . . . .	14

<b>Tabelle D.1 — Absorptionskoeffizienten für spektrophotometrische Gleichungen in Ethanol . . .</b>	<b>19</b>
<b>Tabelle D.2 — Leistungskennndaten zur Bestimmung der Chlorophyll-a-Konzentration in Wasser</b>	<b>20</b>

## **Europäisches Vorwort**

Dieses Dokument (FprEN 17899:2024) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur Formellen Abstimmung vorgelegt.

## Einleitung

Chlorophyll-a ist das häufigste bei photoautotrophen Planktonorganismen vorhandene essentielle Photosynthesepigment. Es ist Hauptbestandteil des dynamisch geregelten Photosystems dieser Organismen, an dem weitere, teilweise dem Chlorophyll-a chemisch sehr ähnliche, akzessorische Pigmente beteiligt sind.

Der Chlorophyll-a-Gehalt hängt von der Artenzusammensetzung des Phytoplanktons, der Tages- und Jahreszeit, dem Ort und der Tiefe der Probenahme ab. Es ist auch geeignet zur Quantifizierung der veränderten Algenbiomasse (Zellvermehrung) in biologischen Tests zur Prüfung der Toxizität von in Wasser gelösten Stoffen.

Die Chlorophyllkonzentration einer Wasserprobe kann Aufschluss über den Trophiegrad eines Gewässers geben. Sie wird als leicht bestimmbares Maß für die Phytoplanktonbiomasse verwendet und ist eine Schlüsselgröße vieler Trophie-Bewertungssysteme. Wenn dieser Wert auch nicht als absolutes Maß für die Phytoplanktonbiomasse gelten kann, gibt die Bestimmung der Chlorophyll-a-Konzentration gemeinsam mit anderen Biomasse- und Bioaktivitätsparametern Auskunft über das mengenmäßige Vorkommen und die potentielle Stoffwechselleistung des Phytoplanktons in Gewässern.

Wegen der Empfindlichkeit des Chlorophylls gegenüber Licht, Säure und Enzymen gibt es derzeit kein universell einsetzbares, routinetaugliches Analysenverfahren, das eine genaue, artefaktfreie und gleichzeitig auch einfache Bestimmung des in phytoplanktonhaltigen Wasserproben enthaltenen Chlorophyll-a ermöglicht. Deshalb liefert das in diesem Dokument beschriebene extraktive, spektrophotometrische Verfahren einen operational definierten Wert. Zur Extraktion wird heißes Ethanol verwendet. Einige andere Lösemittel (z.B. Azeton oder Methanol) werden in Literaturquellen genannt; diese können aber eine geringere Lösungs-Effizienz haben oder sind toxisch und daher problematisch.

**WARNUNG — Anwender dieses Dokuments sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Dieses Dokument gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Arbeitgebers, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen.**

**WICHTIG — Es ist unerlässlich, dass nach diesem Dokument durchgeführte Untersuchungen von entsprechend qualifiziertem Personal durchgeführt werden.**

Anhang A, Anhang B, Anhang C und Anhang D dieser Europäischen Norm sind rein informativ.

## 1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein spektrophotometrisches Verfahren zur Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehalts, korrigiert bezüglich Phaeopigmenten, als Maß für die Menge an Phytoplankton für alle Arten von Oberflächenwasser und Meerwasser fest. Die Bestimmungsgrenze ist gewöhnlich zwischen 2 µg/l bis 5 µg/l und wird von jedem Labor individuell berechnet. Sie kann bis zu 0,5 µg/l bei Verwendung einer Probe von 2 l (oder mehr) und einer 50-mm-Küvette betragen.

**ANMERKUNG** In einigen Messprogrammen wie marinen Untersuchungen von Zeitreihendaten und des ökologischen Zustands/Klassifikation erfolgt keine Korrektur nach Phaeopigmenten und die Ansäuerung wird unterlassen, z.B. auf Empfehlung von OSPAR.

## 2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN ISO 5667-3, *Wasserbeschaffenheit — Probenahme — Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben (ISO 5667-3)*

## 3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

### 3.1

#### **Chlorophyll-a**

natürlicher Pflanzenfarbstoff, der im Phytoplankton vorkommt, wichtigstes Photosynthesepigment photoautotropher Organismen

Anmerkung 1 zum Begriff: Im Sinne dieses Dokuments der Farbstoff, dessen Konzentration durch Absorptionsmessung bei 665 nm in ethanolischer Lösung bestimmt werden kann (korrigiert auf Phaeopigmente).

### 3.2

#### **Phaeopigmente**

Sammelbegriff für Chlorophyll-Abbauprodukte, die kein Magnesium enthalten

**BEISPIEL** Phaeophytin ist ein Phaeopigment.

### 3.3

#### **Phytoplankton**

Gemeinschaft von freilebenden, schwebenden, hauptsächlich photosynthetischen Organismen in einem aquatischen System, bestehend aus Cyanobakterien und Algen

### 3.4

#### **akzessorische Pigmente**

die Photosynthese unterstützende Hilfspigmente

**BEISPIEL** Carotinoide, Phycobiline, Chlorophyll-b und Chlorophyll -c