

# ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation  
de l'accréditation, de la sécurité et qualité  
des produits et services

## ILNAS-EN 15204:2006

### **Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl- Technik)**

Water quality - Guidance standard on the  
enumeration of phytoplankton using  
inverted microscopy (Utermöhl  
technique)

Qualité de l'eau - Norme guide pour le  
dénombrement du phytoplancton par  
microscopie inversée (méthode  
Utermöhl)

08/2006



## Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN 15204:2006 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN 15204:2006 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

### **DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT**

Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

EUROPÄISCHE NORM

ILNAS-EN 15204:2006

**EN 15204**

EUROPEAN STANDARD

NORME EUROPÉENNE

August 2006

ICS 13.060.70

Deutsche Fassung

## Wasserbeschaffenheit - Anleitung für die Zählung von Phytoplankton mittels der Umkehrmikroskopie (Utermöhl- Technik)

Water quality - Guidance standard on the enumeration of  
phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl  
technique)

Qualité de l'eau - Norme guide pour l'analyse de routine de  
l'abondance et de la composition du phytoplancton par  
microscopie inversée (méthode d'Utermöhl)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 14. Juli 2006 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-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. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

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

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



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

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

# Inhalt

	Seite
Vorwort.....	3
Einleitung.....	4
1 Anwendungsbereich.....	5
2 Normative Verweisungen.....	5
3 Begriffe.....	5
4 Grundlage des Verfahrens.....	7
5 Geräte und Konservierungsmittel.....	7
6 Bearbeitung der Proben.....	9
7 Zählverfahren.....	13
8 Quantitative Validierung.....	19
9 Messunsicherheit.....	21
Anhang A (informativ) Optische Merkmale von Umkehrmikroskopen.....	22
Anhang B (informativ) Probenbehandlung.....	24
Anhang C (informativ) Untersuchungsstrategien für Phytoplankton.....	28
Anhang D (informativ) Bestimmung.....	31
Anhang E (informativ) Verwendung konventioneller zusammengesetzter Mikroskope.....	32
Anhang F (informativ) Statistisches Vorgehen.....	35
Literaturhinweise.....	41
<b>Bilder</b>	
Bild 1 — Zufallsverteilung von Phytoplanktonorganismen (auf die offenen Zwischenräume achten) .	13
Bild 2 — Beispiel einer Regel für das Auszählen von Zellen auf den Zählfeldrändern. Algen, die den oberen und linken Rand des Zählrasters berühren, werden nicht gezählt, die, die den unteren und rechten Rand berühren, werden gezählt.....	15
Bild F.1 — Darstellung der Erfassung von Algendaten für einen sequentiellen Test.....	36
<b>Tabellen</b>	
Tabelle 1 — Sedimentationszeit für mit Lugolscher Lösung konservierte Seewasserproben [12].....	12
Tabelle F.1 — Höchstzulässige Streuung für eine Poisson-Verteilung ( $\mu$ = Mittelwert, $\sigma^2$ = Streuung)	36
Tabelle F.2 — Multinomialer Homogenitätstest.....	37

## Vorwort

Dieses Dokument (EN 15204:2006) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 230 „Wasseranalytik“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Februar 2007, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Februar 2007 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

## Einleitung

Mit der Herausgabe der Europäischen Richtlinie zur Schaffung eines Ordnungsrahmens im Bereich der Wasserpolitik (EG-Wasserrahmenrichtlinie, 2000/60/EG) besteht die Notwendigkeit eines einheitlichen Verfahrens zur Bewertung des ökologischen Zustands der Oberflächengewässer hinsichtlich Häufigkeit und Zusammensetzung des Phytoplanktons. Diesen Anforderungen soll diese Europäische Norm nachkommen und den Labors helfen, die Qualität ihrer analytischen Ergebnisse zu verbessern.

Es kann kein einzelnes Normverfahren für die Bewertung der Phytoplanktonzusammensetzung und -häufigkeit angegeben werden, da die durch die Überwachungsprogramme erfassten Fragen in ihrem Charakter unterschiedlich sind und deshalb spezifische Arbeitsvorschriften erfordern. Diese Europäische Norm hat deshalb das Ziel, eine Anleitung zu grundsätzlichen Gesichtspunkten der mikroskopischen Algenanalyse sowie zu statistischen Verfahren zur Gestaltung, Optimierung und Validierung der Verfahren und Arbeitsvorschriften zu geben. Obgleich in Anhang C erwähnt, enthält diese Anleitung kein Verfahren zur Abschätzung des Biovolumens.

**WARNUNG — Anwender dieser Europäischen Norm sollten mit der üblichen Laborpraxis vertraut sein. Eine lang dauernde mikroskopische Untersuchung von Phytoplankton kann zu körperlicher Ermüdung führen und das Sehvermögen beeinträchtigen. Die ergonomischen Eigenschaften des Mikroskops sollten beachtet und der Rat eines Arbeitsmediziners hinsichtlich Gesundheit und Sicherheit eingeholt werden, um sicherzustellen, dass Risiken auf ein Mindestmaß herabgesetzt werden.**

**Diese Europäische Norm gibt nicht vor, alle unter Umständen mit der Anwendung des Verfahrens verbundenen Sicherheitsaspekte anzusprechen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, angemessene Sicherheits- und Schutzmaßnahmen zu treffen und sicherzustellen, dass diese mit nationalen Festlegungen übereinstimmen.**

## 1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren für das Standard-Sedimentationsverfahren fest, das auf dem von Utermöhl 1958 beschriebenen Test [31] beruht. Es beschreibt ein allgemeines Verfahren für die Abschätzung der Abundanz (Häufigkeit) und taxonomischen Zusammensetzung des marinen und limnischen Phytoplanktons unter Verwendung der Durchlichtumkehrmikroskopie und von Sedimentationskammern, einschließlich der vorausgehenden Schritte der Konservierung und Lagerung der Proben. Der Schwerpunkt liegt auf der Optimierung des Verfahrens für die Vorbereitung der zu mikroskopierenden Probe. Viele der allgemeinen Prinzipien können auch auf andere Techniken der Algenzählung (oder anderer Organismen) mit einem (konventionellen) Mikroskop angewandt werden; einige sind im Anhang E beschrieben. Diese Anleitung behandelt weder die Feldprobenahme noch die Analyse des Picoplanktons, noch die quantitative Analyse frei treibender Matten von Cyanobakterien (Blaualgen) noch spezifische Präparationstechniken für Kieselalgen.

## 2 Normative Verweisungen

Nicht anwendbar.

## 3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

### 3.1

#### **Genauigkeit**

Grad der Übereinstimmung zwischen einem Ermittlungsergebnis oder Messergebnis und dem wahren Wert

### 3.2

#### **Algenobjekt**

Zähleinheit bzw. Kolonie einer oder mehrerer bei der Analyse des Phytoplanktons festgestellten Algenzelle(n), die nicht mit anderen (unabhängig davon sedimentierenden) Teilchen in der Probe verbunden ist bzw. sind

### 3.3

#### **Nachweisgrenze**

Mindestanzahl und/oder Größe eines einzelnen Taxon oder einer Gruppe von Organismen in einer Probe, die bei deren Vorhandensein mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit noch erfasst werden kann

ANMERKUNG Diese Definition ist der in der chemischen Analyse (kleinster wahrer Wert des mit diesem Verfahren nachweisbaren Parameters) verwendeten Definition analog.

### 3.4

#### **Fehler**

Abweichung zwischen einem Einzelergebnis und dem wahren Wert

### 3.5

#### **Fixierung**

Schutz vor Zerfall der morphologischen Struktur von Organismen

### 3.6

#### **mikroskopisches Zählfeld**

für die Zählung verwendeter optisch abgegrenzter Bereich (z. B. ein Quadrat oder Raster) innerhalb des Gesichtsfeldes des Mikroskops

### 3.7

#### **Nanoplankton**

kleine Algen mit einer Größe von 2 µm bis 20 µm

**3.8 numerische Apertur**  
NA  
Maß für das Auflösungsvermögen eines Objektivs, das sich aus dem Brechungsindex  $n$  des Mediums zwischen Frontlinse des Objektivs und dem Untersuchungsobjekt, multipliziert mit dem Sinus des halben Öffnungswinkels  $\alpha$  des Objektivs ergibt ( $NA = n \times \sin \alpha$ )

**3.9 Durchführungmerkmal**  
Merkmal einer bestimmten Arbeitsvorschrift, die qualitative und quantitative Aspekte der Präzision der Daten, systematischer Kalibrierung, Empfindlichkeit des Verfahrens und Bereich der Bedingungen, unter denen ein Verfahren zufrieden stellende Daten liefert

**3.10 Phytoplankton**  
Gemeinschaft frei schwebender, vorwiegend photosynthetischer Organismen aquatischer Systeme, einschließlich Cyanobakterien (Blaualgen) und Algen

**3.11 Picoplankton**  
sehr kleine Algen mit einer Größe von 0,2  $\mu\text{m}$  bis 2  $\mu\text{m}$

**3.12 Präzision**  
Grad der Übereinstimmung zwischen voneinander unabhängigen Ermittlungs- bzw. Messergebnissen, die unter festgelegten Bedingungen ermittelt wurden

**3.13 Konservierung**  
Schutz der organischen Substanz vor Zersetzung (Abbau)

**3.14 Arbeitsvorschrift**  
spezifischer Arbeitsablauf eines Analysenverfahrens bezüglich des Volumens der Probe oder Teilprobe, der mikroskopischen Vergrößerung, der Anzahl auszählender Zellen, des taxonomischen Niveaus der Bestimmung usw.

**3.15 Wiederholpräzision**  
Präzision unter Wiederholbedingungen

**3.16 Wiederholbedingungen**  
Bedingungen, unter denen voneinander unabhängige Ermittlungs- bzw. Messergebnissen mit demselben Verfahren an denselben Messobjekten in demselben Labor durch denselben Bearbeiter mit derselben Geräteausrüstung in kurzen Zeitabständen ermittelt werden

ANMERKUNG Diese Definition sollte als der Fehler interpretiert werden, der bei Wiederholungszählungen derselben Probe durch denselben Untersucher in derselben Zählkammer unter Verwendung desselben Mikroskops innerhalb eines Tages auftritt.

**3.17 Vergleichpräzision**  
Präzision unter Vergleichsbedingungen