

# DIN EN 18034:2025-07 (D)

## Algen und Algenprodukte - Probenahme- und Analyseverfahren - Bestimmung des Chlorophyll-a-Gehalts; Deutsche Fassung EN 18034:2024

---

Inhalt	Seite
Europäisches Vorwort.....	8
Einleitung .....	9
1 Anwendungsbereich.....	10
2 Normative Verweisungen .....	10
3 Begriffe .....	10
4 Kurzbeschreibung.....	11
5 Geräte.....	11
6 Reagenzien und Hilfsmittel.....	11
7 Probenahme und Probenvorbereitung.....	13
7.1 Probenahme.....	13
7.2 Probenbehandlung .....	13
8 Durchführung .....	13
8.1 Extraktion .....	13
8.2 Bestimmung der Konzentration der Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung.....	14
8.3 Erstellen der Kalibrierkurve .....	15
8.4 Geräte für die Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle .....	16
8.5 HPLC-Analyse.....	16
8.5.1 HPLC-Aufbau .....	16
8.5.2 Dreifachgradient .....	16
8.5.3 Doppelgradient .....	17
8.5.4 Identifizierung.....	18
9 Berechnung der Chlorophyll <i>a</i> -Konzentration .....	18
9.1 Allgemeines.....	18
9.2 Vergleichpräzision zwischen Laboratorien.....	19
10 Prüfbericht .....	19
Anhang A (informativ) Chlorophyll-Standardlösungen und Standardkurven für die Kalibrierung.....	21
Anhang B (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs und des Ringvergleichs für Chlorophyll <i>a</i> , <i>b</i> und <i>c</i> .....	22
B.1 Einleitung.....	22
B.2 Ergebnisse des Ringversuchs für Chlorophyll <i>a</i> .....	22
B.2.1 Einleitung.....	22
B.2.2 Material A — <i>Saccharina latissima</i> .....	22
B.2.3 Material B — <i>Nannochloropsis</i> sp.....	23
B.2.4 Schlussfolgerungen.....	23
B.3 Ergebnisse des Ringversuchs für Chlorophyll <i>b</i> und <i>c</i> .....	24
B.3.1 Material A — <i>Saccharina latissima</i> .....	24
B.3.2 Material B — <i>Nannochloropsis</i> sp.....	24
B.3.3 Schlussfolgerungen.....	24
B.4 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll <i>a</i> .....	25
B.4.1 Einleitung.....	25

B.4.2	Material A — <i>Saccharina latissima</i> — Methanolextraktion.....	25
B.4.3	Material A — <i>Saccharina latissima</i> — Aceton-/Methanolextraktion.....	26
B.4.4	Material B — <i>Nannochloropsis</i> sp. — Methanolextraktion .....	26
B.4.5	Material B — <i>Nannochloropsis</i> sp. — Aceton-/Methanolextraktion .....	27
B.4.6	Material C — <i>Phaeodactylum</i> sp. — Methanolextraktion .....	28
B.4.7	Material C — <i>Phaeodactylum</i> sp. — Aceton-/Methanolextraktion.....	28
B.4.8	Material D — <i>Ulva</i> sp. — Methanolextraktion.....	29
B.4.9	Material D — <i>Ulva</i> sp. — Aceton-/Methanolextraktion .....	30
B.4.10	Diskussion .....	30
B.4.11	Schlussfolgerungen.....	32
B.5	Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll <i>b</i> .....	32
B.5.1	Material B — Chlorophyll <i>b</i> — <i>Nannochloropsis</i> sp .....	32
B.5.2	Material C — Chlorophyll <i>b</i> — <i>Phaeodactylum</i> sp .....	32
B.5.3	Material D — Chlorophyll <i>b</i> — <i>Ulva</i> sp .....	33
B.5.4	Diskussion .....	34
B.5.5	Schlussfolgerungen.....	34
B.6	Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll <i>c</i> .....	34
B.6.1	Material A — Chlorophyll <i>c</i> — <i>Saccharina latissima</i> .....	34
B.6.2	Material B — Chlorophyll <i>c</i> — <i>Nannochloropsis</i> sp.....	35
B.6.3	Material C — Chlorophyll <i>c</i> — <i>Phaeodactylum</i> sp .....	35
B.6.4	Material D — Chlorophyll <i>c</i> — <i>Ulva</i> sp.....	36
B.6.5	Diskussion .....	36
B.6.6	Schlussfolgerungen.....	36
B.7	Schlussfolgerungen des Ringvergleichs.....	37
B.7.1	Schlussfolgerungen für Chlorophyll <i>a</i> .....	37
B.7.2	Schlussfolgerungen für Chlorophyll <i>b</i> und <i>c</i> .....	37
Anhang C (informativ) Identifizierung von Chlorophyll <i>a</i> .....		38
C.1	Identifizierung von Chlorophyll <i>a</i> .....	38
C.2	Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung: Dreifachgradient — stationäre C18-Phase.....	38
C.2.1	Allgemeines.....	38
C.2.2	Positive Identifizierung.....	39
C.2.3	Negative Identifizierung .....	40
C.3	Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung: Doppelgradient — stationäre C8-Phase .....	41
C.3.1	Allgemeines.....	41
C.3.2	Positive Identifizierung.....	41
C.3.3	Negative Identifizierung .....	42
Literaturhinweise .....		44

## Bilder

Bild B.1	— Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material A.....	23
Bild B.2	— Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material B.....	23
Bild B.3	— Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>b</i> und <i>c</i> in Material A.....	24
Bild B.4	— Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>b</i> und <i>c</i> in Material B.....	24
Bild B.5	— Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material A — Methanolextraktion.....	25
Bild B.6	— Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material A — Aceton-/Methanolextraktion.....	26

Bild B.7 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material B — Methanolextraktion .....	27
Bild B.8 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material B — Aceton-/Methanolextraktion.....	27
Bild B.9 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material C — Methanolextraktion .....	28
Bild B.10 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material C — Aceton-/Methanolextraktion.....	29
Bild B.11 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material D — Methanolextraktion .....	29
Bild B.12 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material D — Aceton-/Methanolextraktion .....	30
Bild B.13 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>a</i> in Material D — beide Extraktionsverfahren .....	31
Bild B.14 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>b</i> in Material B .....	32
Bild B.15 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>b</i> in Material C .....	33
Bild B.16 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>b</i> in Material D.....	33
Bild B.17 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>c</i> in Material A.....	34
Bild B.18 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>c</i> in Material B.....	35
Bild B.19 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>c</i> in Material C.....	35
Bild B.20 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll <i>c</i> in Material D .....	36
Bild C.1 — Spektrum der Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung, bestimmt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase.....	38
Bild C.2 — Chromatogramm der Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung, bestimmt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase .....	39
Bild C.3 — Spektren der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase.....	39
Bild C.4 — Chromatogramm der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase.....	40
Bild C.5 — Spektren der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase.....	40
Bild C.6 — Chromatogramm der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase.....	41
Bild C.7 — Spektrum der Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung, bestimmt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase .....	41
Bild C.8 — Chromatogramm der Chlorophyll- <i>a</i> -Standardlösung, bestimmt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase.....	41

<b>Bild C.9</b> — Spektren der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase .....	<b>42</b>
<b>Bild C.10</b> — Chromatogramm der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase .....	<b>42</b>
<b>Bild C.11</b> — Spektren der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und C8-Säule.....	<b>43</b>
<b>Bild C.12</b> — Chromatogramm der <i>Nannochloropsis</i> -Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und C8-Säule .....	<b>43</b>

## **Tabellen**

<b>Tabelle 1</b> — Extinktionskoeffizienten von Chlorophyllen und Abbauprodukten auf Grundlage von Anhang G von Jeffrey et al. [1] .....	<b>15</b>
<b>Tabelle 2</b> — Dreifachgradient-Einstellwerte.....	<b>17</b>
<b>Tabelle 3</b> — Doppelgradient-Einstellwerte.....	<b>17</b>
<b>Tabelle 4</b> — Qualitätsparameter der Ergebnisse des Ringvergleichs für das Chlorophyll <i>a</i> -Verfahren .....	<b>19</b>
<b>Tabelle A.1</b> — Chlorophylle und Abbauprodukte und deren Kategorie- und CAS-Nummer (CAS-Nr.).....	<b>21</b>
<b>Tabelle B.1</b> — Berichtete Chlorophyll- <i>a</i> -Konzentrationen und resultierende RSD mit den verschiedenen verwendeten Lösemitteln .....	<b>30</b>