E DIN EN 18034:2023-12 (D/E)

Erscheinungsdatum: 2023-11-03

Algen und algenbasierte Produkte oder Zwischenprodukte - Verfahren zur Probenentnahme und Analyse - Quantifizierung von Chlorophyll; Deutsche und Englische Fassung prEN 18034:2023

Algae and algae products or intermediates - Methods of sampling and analysis - Determination of chlorophyll a content; German and English version prEN 18034:2023

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 12
7.1 Probenahme 12
7.2 Probebehandlung 13

8 Durchführung 13
8.1 Extraktion 13
8.2 Bestimmung der Konzentration der Chlorophyll-*a*-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 *a*-Konzentration 18
9.1 Allgemeines 18
9.2 Vergleichpräzision zwischen Laboratorien 18

10 Prüfbericht 19

Anhang A (informativ) Chlorophyll-Standardlösungen und Standardkurven für die Kalibrierung 20
A.1 Wahl der Chlorophyll-Standardlösungen 20

Anhang B (informativ) Ergebnisse des Ringversuchs und des Ringvergleichs für Chlorophyll *a*, *b* und *c* 21
B.1 Einleitung 21
B.2 Ergebnisse des Ringversuchs für Chlorophyll *a* 21
B.2.1 Einleitung 21
B.2.2 Material A — *Saccharina latissima* 21
B.2.3 Material B — *Nannochloropsis* 22

B.2.4 Schlussfolgerungen ... 22
B.3 Ergebnisse des Ringversuchs für Chlorophyll *b* und *c* ... 23
B.3.1 Material A — *Saccharina latissima* ... 23
B.3.2 Material B — *Nannochloropsis* ... 23
B.3.3 Schlussfolgerungen ... 23
B.4 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll *a* ... 24
B.4.1 Einleitung ... 24
B.4.2 Material A — *Saccharina latissima* — Methanolextraktion ... 24
B.4.3 Material A — *Saccharina latissima* — Aceton-/Methanolextraktion ... 25
B.4.4 Material B — *Nannochloropsis* — Methanolextraktion ... 25
B.4.5 Material B — *Nannochloropsis* — Aceton-/Methanolextraktion ... 26
B.4.6 Material C — *Phaeodactylum* — Methanolextraktion ... 27
B.4.7 Material C — *Phaeodactylum* — Aceton-/Methanolextraktion ... 27
B.4.8 Material D — *Ulva* — Methanolextraktion ... 28
B.4.9 Material D — *Ulva* — Aceton-/Methanolextraktion ... 29
B.4.10 Diskussion ... 29
B.4.11 Schlussfolgerungen ... 31
B.5 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll *b* ... 31
B.5.1 Material B — Chlorophyll *b* — *Nannochloropsis* ... 31
B.5.2 Material C — Chlorophyll b — *Phaeodactylum* ... 31
B.5.3 Material D — Chlorophyll *b* — *Ulva* ... 32
B.5.4 Diskussion ... 33
B.5.5 Schlussfolgerungen ... 33
B.6 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll *c* ... 33
B.6.1 Material A — Chlorophyll *c* — *Saccharina latissima* ... 33
B.6.2 Material B — Chlorophyll *c* — *Nannochloropsis* ... 34
B.6.3 Material C — Chlorophyll *c* — *Phaeodactylum* ... 34
B.6.4 Material D — Chlorophyll *c* — *Ulva* ... 35
B.6.5 Diskussion ... 35
B.6.6 Schlussfolgerungen ... 35
B.7 Schlussfolgerungen des Ringvergleichs ... 36
B.7.1 Schlussfolgerungen für Chlorophyll *a* ... 36
B.7.2 Schlussfolgerungen für Chlorophyll *b* und *c* ... 36

Anhang C (informativ) Identifizierung von Chlorophyll *a* ... 37
C.1 Identifizierung von Chlorophyll *a* ... 37
C.2 Chlorophyll-*a*-Standardlösung: Dreifachgradient — stationäre C18-Phase ... 37
C.2.1 Allgemeines ... 37
C.2.2 Positive Identifizierung ... 38
C.2.3 Negative Identifizierung ... 39
C.3 Chlorophyll-*a*-Standardlösung: Doppelgradient — stationäre C8-Phase ... 39
C.3.1 Allgemeines ... 39
C.3.2 Positive Identifizierung ... 40
C.3.3 Negative Identifizierung ... 41

Literaturhinweise ... 43

Bilder

Bild B.1 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material A ... 22

Bild B.2 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material B ... 22

Bild B.3 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b und c in Material A ... 23

Bild B.4 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b und c in Material B 23

Bild B.5 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material A — Methanolextraktion 24

Bild B.6 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material A — Aceton-/Methanolextraktion 25

Bild B.7 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material B — Methanolextraktion 26

Bild B.8 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material B — Aceton-/Methanolextraktion 26

Bild B.9 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material C — Methanolextraktion 27

Bild B.10 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material C — Aceton-/Methanolextraktion 28

Bild B.11 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material D — Methanolextraktion 28

Bild B.12 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material D — Aceton-/Methanolextraktion 29

Bild B.13 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll a in Material D — beide Extraktionsverfahren 30

Bild B.14 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b in Material B 31

Bild B.15 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b in Material C 32

Bild B.16 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b in Material D 32

Bild B.17 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material A 33

Bild B.18 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material B 34

Bild B.19 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material C 34

Bild B.20 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material D 35

Bild C.1 — Chromatogramm der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 37

Bild C.2 — Spektrum der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 38

Bild C.3 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 38

Bild C.4 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 39

Bild C.5 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 39

Bild C.6 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase **39**

Bild C.7 — Chromatogramm der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase **40**

Bild C.8 — Spektrum der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase **40**

Bild C.9 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase **41**

Bild C.10 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase **41**

Bild C.11 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und C8-Säule **42**

Bild C.12 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und C8-Säule **42**

Tabellen

Tabelle 1 — Extinktionskoeffizienten von Chlorophyllen und Abbauprodukten auf Grundlage von Anhang G von Jeffrey et al. [1] **15**

Tabelle 2 — Dreifachgradient-Einstellwerte **16**

Tabelle 3 — Doppelgradient-Einstellwerte **17**

Tabelle 4 — Qualitätsparameter der Ergebnisse des Ringvergleichs für das Chlorophyll *a*-Verfahren **19**

Tabelle A.1 — Chlorophylle und Abbauprodukte und deren Kategorie- und CAS-Nummer (CAS-Nr.) **20**

Tabelle B.1 — Berichtete Chlorophyll-*a*-Konzentrationen und resultierende RSD mit den verschiedenen verwendeten Lösemitteln **29**