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-*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 ... 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 *a*, *b* und *c* ... 22
B.1 Einleitung ... 22
B.2 Ergebnisse des Ringversuchs für Chlorophyll *a* ... 22
B.2.1 Einleitung ... 22
B.2.2 Material A — *Saccharina latissima* ... 22
B.2.3 Material B — *Nannochloropsis* sp ... 23
B.2.4 Schlussfolgerungen ... 23
B.3 Ergebnisse des Ringversuchs für Chlorophyll *b* und *c* ... 24
B.3.1 Material A — *Saccharina latissima* ... 24
B.3.2 Material B — *Nannochloropsis* sp ... 24
B.3.3 Schlussfolgerungen ... 24
B.4 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll *a* ... 25
B.4.1 Einleitung ... 25

B.4.2 Material A — *Saccharina latissima* — Methanolextraktion ... 25
B.4.3 Material A — *Saccharina latissima* — Aceton-/Methanolextraktion ... 26
B.4.4 Material B — *Nannochloropsis* sp. — Methanolextraktion ... 26
B.4.5 Material B — *Nannochloropsis* sp. — Aceton-/Methanolextraktion ... 27
B.4.6 Material C — *Phaeodactylum* sp. — Methanolextraktion ... 28
B.4.7 Material C — *Phaeodactylum* sp. — Aceton-/Methanolextraktion ... 28
B.4.8 Material D — *Ulva* sp. — Methanolextraktion ... 29
B.4.9 Material D — *Ulva* sp. — Aceton-/Methanolextraktion ... 30
B.4.10 Diskussion ... 30
B.4.11 Schlussfolgerungen ... 32
B.5 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll *b* ... 32
B.5.1 Material B — Chlorophyll *b* — *Nannochloropsis* sp ... 32
B.5.2 Material C — Chlorophyll *b* — *Phaeodactylum* sp ... 32
B.5.3 Material D — Chlorophyll *b* — *Ulva* sp ... 33
B.5.4 Diskussion ... 34
B.5.5 Schlussfolgerungen ... 34
B.6 Ergebnisse des Ringvergleichs für Chlorophyll *c* ... 34
B.6.1 Material A — Chlorophyll *c* — *Saccharina latissima* ... 34
B.6.2 Material B — Chlorophyll *c* — *Nannochloropsis* sp ... 35
B.6.3 Material C — Chlorophyll *c* — *Phaeodactylum* sp ... 35
B.6.4 Material D — Chlorophyll *c* — *Ulva* sp ... 36
B.6.5 Diskussion ... 36
B.6.6 Schlussfolgerungen ... 36
B.7 Schlussfolgerungen des Ringvergleichs ... 37
B.7.1 Schlussfolgerungen für Chlorophyll *a* ... 37
B.7.2 Schlussfolgerungen für Chlorophyll *b* und *c* ... 37

Anhang C (informativ) Identifizierung von Chlorophyll *a* ... 38
C.1 Identifizierung von Chlorophyll *a* ... 38
C.2 Chlorophyll-*a*-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-*a*-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 *a* in Material A ... 23

Bild B.2 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material B ... 23

Bild B.3 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *b* und *c* in Material A ... 24

Bild B.4 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *b* und *c* in Material B ... 24

Bild B.5 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material A — Methanolextraktion ... 25

Bild B.6 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material A — Aceton-/Methanolextraktion ... 26

Bild B.7 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material B — Methanolextraktion 27

Bild B.8 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material B — Aceton-/Methanolextraktion 27

Bild B.9 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material C — Methanolextraktion 28

Bild B.10 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material C — Aceton-/Methanolextraktion 29

Bild B.11 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material D — Methanolextraktion 29

Bild B.12 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material D — Aceton-/Methanolextraktion 30

Bild B.13 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll *a* in Material D — beide Extraktionsverfahren 31

Bild B.14 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b in Material B 32

Bild B.15 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b in Material C 33

Bild B.16 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll b in Material D 33

Bild B.17 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material A 34

Bild B.18 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material B 35

Bild B.19 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material C 35

Bild B.20 — Graphische Darstellung der berichteten Ergebnisse für Chlorophyll c in Material D 36

Bild C.1 — Spektrum der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 38

Bild C.2 — Chromatogramm der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 39

Bild C.3 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 39

Bild C.4 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 40

Bild C.5 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 40

Bild C.6 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Dreifachgradient und stationärer C18-Phase 41

Bild C.7 — Spektrum der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase 41

Bild C.8 — Chromatogramm der Chlorophyll-*a*-Standardlösung, bestimmt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase 41

Bild C.9 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase 42

Bild C.10 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und stationärer C8-Phase 42

Bild C.11 — Spektren der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und C8-Säule 43

Bild C.12 — Chromatogramm der *Nannochloropsis*-Biomasse, ermittelt mit Doppelgradient und C8-Säule 43

Tabellen

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

Tabelle 2 — Dreifachgradient-Einstellwerte 17

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.) 21

Tabelle B.1 — Berichtete Chlorophyll-*a*-Konzentrationen und resultierende RSD mit den verschiedenen verwendeten Lösemitteln 30