

Phyton (Austria)	Vol. 26	Fasc. 2	235–246	15. 4. 1987
------------------	---------	---------	---------	-------------

## Methodische Ergänzungen zum Trübungstest zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen

Von

Otto HÄRTEL \*) und Heinz FUCHSHOFER

Mit 1 Abbildung

Eingelangt am 31. Januar 1986

Key words: Trübungstest, turbidity test, Bioindikation, Luftverunreinigungen, Koniferen, *Picea abies*

### Summary

HÄRTEL O. & FUCHSHOFER H. 1987. Methodical supplements to the turbidity test for bioindication of effects of air pollution on Conifers. – *Phyton (Austria)* 26 (2): 235–246, with 1 figure. – German with English summary.

Some improvements in the “turbidity test”, known as a method advantageous in principle for the bioindication of effects of air pollutants (SO<sub>2</sub>, fluorine compounds and probably photooxidants) on Conifers are given. Proposals concerning preparation and extraction of the needles aim at diminished scattering of the obtained values, and a graphic method is described which allows to normalize readings taken from any photometer whatever is used, turning them comparable by taking a conventional standard scale as a basis.

### Zusammenfassung

HÄRTEL O. & FUCHSHOFER H. 1987. Methodische Ergänzungen zum Trübungstest zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen. – *Phyton (Austria)* 26 (2): 235–246, mit 1 Abbildung. – Deutsch mit englischer Zusammenfassung.

Es werden einige Verbesserungen des Trübungstests, einer in Prinzip vorteilhaften Methode zur Indikation von Abgaswirkungen (SO<sub>2</sub>, Fluorverbindungen, vermutlich auch Photooxidantien) mitgeteilt. Vorschläge hinsichtlich der Vorbereitung der Proben für den Test sowie des Kochvorganges zielen auf eine verminderte Streuung der Werte, weiters wird eine graphische Methode zur Normierung der stark vom jeweiligen Photometertyp abhängigen abgelesenen Trübungswerte auf eine konventionelle Skala mitgeteilt.

---

\*) Prof. Dr. Otto HÄRTEL, Institut für Pflanzenphysiologie der Karl-Franzens-Universität Graz, Schubertstraße 51, A-8010 Graz, Austria.

## Einleitung

Der von HÄRTEL 1953 angegebene sog. Trübungstest hat eine Möglichkeit eröffnet, ohne großen apparativen Aufwand Anhaltspunkte für die Stärke der vorangegangenen Einwirkung von  $\text{SO}_2$  auf Fichten zu erhalten. PELZ & DELLING 1963 konnten zeigen, daß der Test auch fluorhaltige Immissionen anzeigt und auch bei Tannen anwendbar ist; Beobachtungen von GRILL & HÄRTEL 1973 legten nahe, daß der Test auch auf Einwirkungen von Photooxidationsprodukten anspricht.

Obwohl der Test als Bioindikator anerkannt und günstig beurteilt wurde (vgl. z. B. DÄSSLER 1963), ist es doch stiller um ihn geworden. Dies liegt einmal an der doch nicht unerheblichen Streuung der Werte, hauptsächlich aber wohl daran, daß es lange unklar geblieben ist, was der Test eigentlich anzeigt (KELLER & al. 1976). Nun konnte jüngst an Fichtennadeln nachgewiesen werden, daß der Ausfall des Trübungstests im wesentlichen von der Menge freier Calcium-Ionen in der Epidermis der Nadeln abhängt (FUCHSHOFER 1985, FUCHSHOFER & HÄRTEL 1985). Festlegung des  $\text{Ca}^{2+}$  durch Sulfat-Ion als schwerlöslicher Gips führt zu stärker getrüben Nadeldekokten, wie es für  $\text{SO}_2$ -belastete Nadeln charakteristisch ist; gleiches gilt für die Festlegung des  $\text{Ca}^{2+}$  durch fluorhaltige Immissionen. Erhöhung des  $\text{Ca}^{2+}$ -Spiegels hingegen senkt die Trübung der Dekokte  $\text{SO}_2$ -belasteter Nadeln auf normale Werte.

Die Versuche FUCHSHOFERS 1985 setzten umfangreiche methodische Vorarbeiten mit dem Ziele einer möglichen Verringerung der Streuung der Werte voraus. Auch in dieser Richtung konnten Fortschritte erzielt werden. Darüber sowie über ein Verfahren, die Testresultate vom jeweils verwendeten Photometertyp unabhängig zu machen und damit zu normieren, soll im Nachstehenden berichtet werden.

## Methodischer Teil

### 1. Standardvorschrift

Den folgenden Ausführungen sei zweckmäßigerweise eine kurze Wiederholung der Vorschrift zur Durchführung des Tests vorangestellt (im wesentlichen nach HÄRTEL 1972).

2 g frische Nadeln (in der Regel der beiden letzten Nadeljahrgänge) werden möglichst ohne Verletzungen von den Trieben gelöst und in Reagensgläsern mit 12 ml Wasser im Glycerinbad (technisches Glycerin mit Wasser im Verhältnis 1 : 1) bei leichter Blasenbildung gekocht. Hernach wird die Flüssigkeit möglichst vollständig in andere Reagensgläser umgegossen und mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Nach völligem Erkalten auf Zimmertemperatur wird die Lichtabsorption im Reagensglasphotometer gemessen; vorteilhaft ist dabei gelbes Licht, um Fehler durch etwa auftretende Gelbfärbung der Extrakte möglichst gering zu halten. Beim Photome-

trieren der Nadeldekotte in runden Meßküvetten von 10 mm lichter Weite ergeben Fichtennadeln aus  $\pm$  abgasfreien Lagen im Herbst, der für die Durchführung des Trübungstests günstigsten Jahreszeit, Extrakte mit 20–25, höchstens 30% Lichtabsorption; bei stark durch  $\text{SO}_2$  belasteten Nadeln kann die Lichtabsorption 80% übersteigen.

Die Standardabweichungen der Meßwerte können in ungünstigen Fällen bis etwa 15% (Skalenprozent) betragen. Neben den unvermeidbaren individuellen Unterschieden kommen mehrere Ursachen in Frage: a) staubförmige Auflagerungen oder Adkrusten auf den Nadeln, b) inhomogenes Sieden während der Extraktion und c) Ungleichheit der zur Extraktion verwendeten Gefäße.

Für die nachstehend beschriebenen Versuche wurden Nadeln von gering bis deutlich von Stadtluft belasteten Fichten (*Picea abies* [L.] KARST.), gesammelt am Stadtrand von Graz, verwendet. Da die Nadeln immer wieder frisch gesammelt wurden, sind die Ausgangswerte in den einzelnen Versuchsserien naturgemäß unterschiedlich.

## 2. Verbesserte Vorbereitung und Extraktion

Schon STEINHÜBEL 1957 hat die Frage aufgeworfen, ob nicht Staubauflagerungen die Trübungswerte verändern können. Unsere Vergleiche gewaschener und ungewaschener ergaben erwartungsgemäß kleinere Standardabweichungen bei ersteren (Tabelle 1).

Tabelle 1

Einfluß der Vorwäsche auf die Streuung der Trübungswerte (%)

	nicht vorgewaschen	vorgewaschen
Versuch 1:	60,0 $\pm$ 2,8	52,3 $\pm$ 1,5
Versuch 2:	51,7 $\pm$ 6,3	45,3 $\pm$ 1,5
Versuch 3:	27,4 $\pm$ 2,4	21,3 $\pm$ 0,6

Nach einer derartigen Vorreinigung wurden, wie aus Tabelle 1 ersichtlich ist, etwas verminderte Trübungswerte gefunden. Aber auch das Gegenteil ist möglich. Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß  $\text{SO}_2$ -belastete und zusätzlich stark verstaubte Nadeln fast normale Trübungswerte liefern können (FUCHSHOFER & HÄRTEL 1985). Durch den anhaftenden Staub wird der Calciumspiegel erhöht, wodurch es zu geringeren Trübungen kommt und geringe Belastung vorgetäuscht wird. Auch in solchen Fällen führt Vorwäsche zweifellos zu richtigeren Resultaten.

Es lag nahe, den durch Vorreinigung der Nadeln erzielbaren günstigen Effekt durch den Einsatz eines Detergens sicherzustellen. Dabei läßt es sich aber nicht vermeiden, daß beim anschließendem Kochen reichlich Schaum entsteht, der die Reproduzierbarkeit des Kochvorganges in Frage stellt. Es

ist daher vom Einsatz von Detergentien dringend abzuraten. Man geht am besten so vor, daß je Probe 2 g frisch geerntete Nadeln mit reichlich deionisiertem oder destilliertem Wasser geschüttelt werden; dies wird nach Wasserwechsel noch einmal wiederholt, worauf die vom überschüssigen Wasser befreiten Nadeln unmittelbar in die Kocheprövetten übergeführt werden. Es ist jedoch darauf zu achten, daß bei dieser Prozedur keine Nadeln verlorengehen.

Es ergibt sich bei Serienversuchen von selbst, daß die Eprövetten mit den Nadeln ins bereits siedende Glycerinbad eingesetzt werden. Dies sollte als Regel unbedingt eingehalten werden. Setzt man nämlich die mit Nadeln und Wasser beschickten Reagensgläser ins kalte Glycerinbad ein und heizt sie erst mit diesem auf, so resultieren um ca. 6% geringere Trübungswerte; die Abnahme ist mit  $P < 0,01$  statistisch signifikant, während eine dabei beobachtete geringe Erhöhung der Standardabweichung von  $\pm 2,1$  auf  $\pm 2,9$  Skalenprozent nicht signifikant ist.

Von besonderem Einfluß auf die Höhe der Trübungswerte erwies sich überraschenderweise die Art der zur Extraktion verwendeten Gefäße. Dies sei an Hand eines Vergleiches von Extraktion, die in Eprövetten verschiedener lichter Weite hergestellt wurden, demonstriert (Tabelle 2).

Tabelle 2

Einfluß des Durchmessers der Kocheprövetten auf an  $\pm$  homogenem Nadelmaterial von *Picea abies* erhaltenen Trübungswerte ( $A = \% \text{ Lichtabsorption}$ ,  $E' \times F = \text{Produkt aus der der Absorption entsprechenden Extinktion und der lichten Querschnittsfläche der Eprövetten}$ )

Lichte Weite	Eprövetten		$E' \times F$
	offen	mit Steigrohr verschlossen	
14,5 mm	61,8 $\pm$ 17,8	59,3 $\pm$ 19,8	82
17,0 mm	65,6 $\pm$ 13,3	68,8 $\pm$ 13,1	
20,0 mm	37,6 $\pm$ 9,9	44,6 $\pm$ 15,8	63
26,0 mm	29,9 $\pm$ 19,7	47,3 $\pm$ 24,1	83

Während sich zwischen den in 14,5 und 17 mm weiten Eprövetten hergestellten Extrakten keine signifikanten Unterschiede ergeben, bleibt die erhaltene Trübung bei Extraktion in 20 mm weiten Eprövetten um rd. 23 Skalenprozent, in 26 mm weiten gar um mehr als 30% darunter, die Unterschiede gegenüber den Röhrchen mit 14,5 bzw. 17 mm sind trotz der in diesem Versuch stark streuenden Einzelwerte mit  $P < 0,01$  sehr signifikant. Als Ursache für diese auffallenden Unterschiede scheidet verdampftes Wasser aus; ein dadurch verursachter Fehler müßte sich in entgegengesetztem Sinne auswirken, zudem wird es ja nach der Extraktion ersetzt. Das Versuchsergebnis legt vielmehr die Annahme nahe, daß am Zustandekommen



der Trübung eine flüchtige Komponente mitbeteiligt sein könnte. Dafür spricht, daß sich die Trübungen (= Lichtabsorption) auch unter Berücksichtigung der großen Streuungen zur verdampfenden Oberfläche verkehrt proportional verhalten; berechnet man aus den Absorptionswerten die entsprechenden Extinktionswerte (sie ändern sich in dem in Frage kommenden Bereich mit dem Festgehalt der Dekotte linear, vgl. den Abschnitt „Photometrie“) und multipliziert diese mit der Querschnittsfläche  $F$  der Eprouvetten, so bleibt das Produkt annähernd konstant (Tabelle 2). Zum ändern läßt sich der Abfall der Trübung in den weiteren Röhrchen durch aufgesetzte, als einfache Rückflußkühler wirkende Glasrohre zu einem erheblichen Teil vermindern (Tab. 2). In einem anderen Versuch lieferten Nadelproben, die im offenen Rundkolben gekocht worden waren, nur schwach getrübe Extrakte mit einer Lichtabsorption von rd. 20%, eine gleiche Probe im selben Kolben unter wassergekühltem Rückflußkühler gekocht ergab einen trüben Extrakt von 45% Lichtabsorption. Dies führt uns aber wieder zur Frage nach der chemischen Natur der trübenden Substanz; sie soll aber auch hier ausgeklammert bleiben. Im Rahmen dieser Arbeit begnügen wir uns mit der Folgerung, daß zur Herstellung der Extrakte für den Trübungstest nur Eprouvetten gleicher Weite zwischen 14,5 und 17 mm  $\varnothing$  verwendet werden sollten.

Beim Kochen selbst ist streng darauf zu achten, daß das Wasser in allen Röhrchen gleichzeitig zu sieden beginnt und gleichmäßig Blasen wirft. Voraussetzung hierfür ist, daß das Wasser in allen Röhrchen gleich hoch steht (was sich bei Verwendung gleich weiter Röhrchen von selbst ergibt) und daß die Eprouvetten nicht zu dicht gepackt in einem engen Gefäß stehen. In dichter Packung beginnen die zuinnerst stehenden Röhrchen früher Blasen zu werfen als die weiter außen stehenden, auch die Intensität des Blasenwerfens ist in der Mitte des Kochgefäßes meist deutlich größer. Der Einfluß ungleichen Siedens kommt beim Vergleich der Standardabweichungen der Trübungswerte deutlich zum Ausdruck:

Eprouvetten dicht gepackt  $A = 26,5 \pm 2,9$

Eprouvetten freistehend  $A = 26,2 \pm 0,9$

Während sich die Mittelwerte der Lichtabsorption nicht verändern, verhalten sich die Standardabweichungen der Einzelwerte wie rd. 3 : 1 zugunsten der freistehenden Anordnung. Es empfiehlt sich daher, einen Eprouvetteneinsatz zu verwenden oder, in Ermangelung eines solchen, zumindest die Eprouvetten während des Kochens mehrmals mit Hilfe einer Tiegelzange o. ä. in ihrer Lage zu verändern. Auch sollte das Glycerin nie höher stehen als der Flüssigkeitsspiegel in den Eprouvetten.

Auch das Verhältnis von Nadelmenge zu Wasservolumen darf, sollen die Werte vergleichbar bleiben, keinesfalls verändert werden. So erhält man verschiedene Trübungswerte wenn man Nadeln normal kocht und nachträglich verdünnt oder wenn man die Nadeln gleich in der größeren Wassermenge extrahiert, wie folgende Tabelle 3 zeigt.

Tabelle 3

Einfluß des Verhältnisses Nadelmenge : Wasservolumen auf den Trübungswert A (%)

2 g Nadeln in ml H <sub>2</sub> O gekocht	10-ml-Extrakt nachträglich verdünnt auf		
	20 ml	30 ml	40 ml
20 ml: A = 47,6 ± 4,5	28,5 ± 5,8		
30 ml: A = 36,6 ± 10,2		21 ± 5,5	
40 ml: A = 39,9 ± 3,8			17,1 ± 2,2

Auch dieses Ergebnis weist in Richtung der auf Grund der Tabelle 2 geäußerten Vermutung der Mitbeteiligung einer flüchtigen Komponente; auch muß bedacht werden, daß Polymerisationsvorgänge, und um solche handelt es sich zweifellos bei den auftretenden Trübungen, von der Konzentration der Extraktstoffe, sicher aber auch von der Art der Gefäße abhängen. Dies läßt auch erkennen, daß nachträgliches Verdünnen optisch dichter Dekokte zwecks besserer Meßbarkeit problematisch ist.

### 3. Photometrie

Die der Messung von Trübungen adäquate Methode wäre natürlich die Nephelometrie, also die Messung des vom Extrakt gestreuten Lichtes. Um aber den apparativen Aufwand möglichst gering zu halten und die Anwendung des Tests nicht auf speziell eingerichtete Laboratorien einzuschränken, wurde bereits in den ersten Veröffentlichungen (HÄRTEL 1953, 1960) davon abgesehen und der mit einfachen Photometern möglichen Messung der Lichtabsorption der Vorzug gegeben, obwohl dieses Verfahren zusätzliche Probleme aufwirft. Es wird ja bei trüben Lösungen keine „echte“, dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz folgende Absorption gemessen. Die Anzeige des Instruments hängt in hohem Grade von der Streuung des Lichtes durch das Medium ab. Es ist also nicht möglich, auf diesem Wege eine Absolutskala für die Trübungswerte zu erstellen.

Ein Großteil der in der Literatur vorliegenden Trübungswerte (vgl. HÄRTEL 1972) ist mit einem einfachen Reagensglasphotometer (BioPhotoCol der Fa. Helige) ausgeführt worden. Es erwies sich vor allem deswegen vorteilhaft, weil das darin eingebaute große Photoelement auch einen großen Anteil des gestreuten Lichtes erfaßt. Unbelastete Nadeln geben Extrakte, die mit diesem Gerät Absorptionswerte von 15–25%, stärkst getrübe Extrakte hochgradig durch SO<sub>2</sub> oder durch Photooxidantien belasteter Nadeln zeigen Absorptionswerte über 80%. Dieser Bereich von 20–80% nützt die Prozentskala optimal aus, beläßt aber doch für extreme Fälle Spielraum nach oben wie nach unten. Es besteht also kein Grund, von dieser Skala abzugehen. Angesichts der durch das Streulicht bedingten Abhängig-

keit der abgelesenen Absorptionswerte vom verwendeten Instrument ist es angebracht, die vom jeweilig verwendeten Gerät abgelesenen Werte auf diesen Bereich zu normieren, um Vergleichbarkeit sicherzustellen.

Eine derartige „Eichung“ erfordert einen leicht reproduzierbaren Trübungsstandard. Bei der Suche nach einem solchen durch einen von uns (H.)

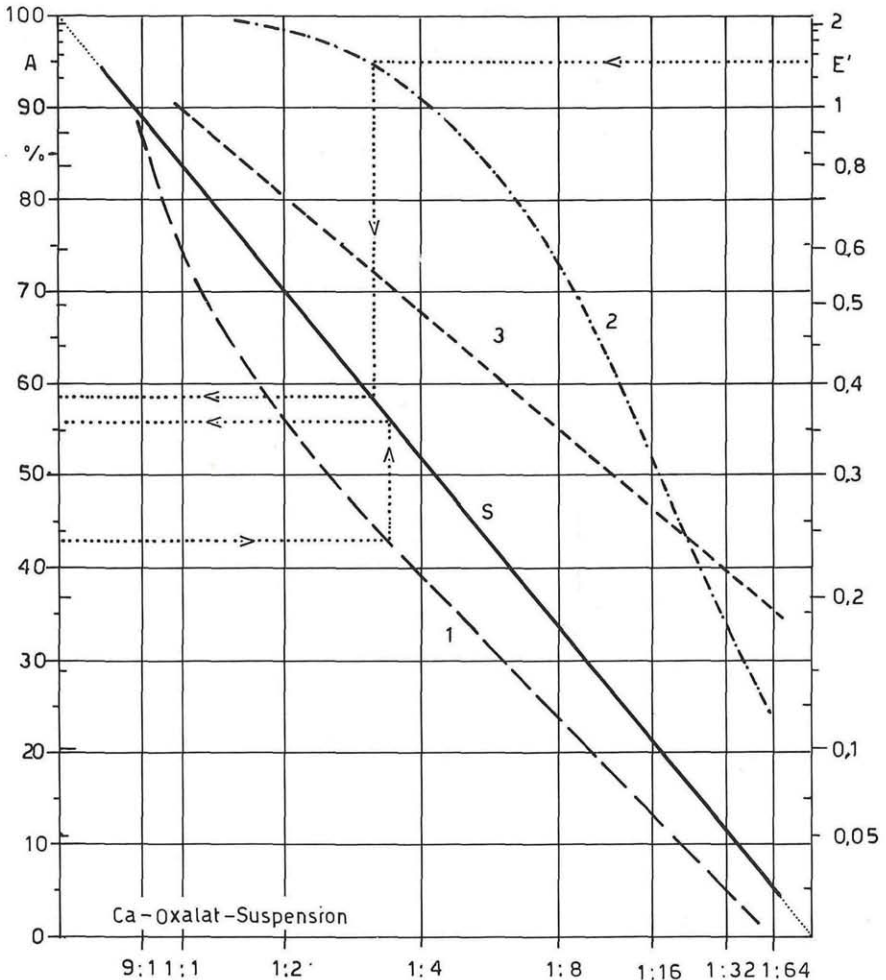


Fig. 1. Koordinatennetz zur Normierung gemessener Trübungswerte auf eine Standardskala. Abszisse: Relative Konzentrationen der Ca-Oxalat-Suspensionen; Ordinate links: A = prozentuale Absorption, Ordinate rechts: Extinktion  $E'$  der Suspensionen. S = Standardgerade, 2 = Standardsuspensionen, mit einem Lange-Kolorimeter Mod. V gemessen, 2 = desgl. mit einem Beckman Spektralphotometer Modell B gemessen (Schichtdicke 10 mm), 3 = Standardsuspensionen wie S, jedoch mit Meßröhrchen größerer lichter Weite gemessen.

war wieder von der Überlegung auszugehen, daß dazu möglichst einfache Chemikalien und wenig Gerätschaften erforderlich sein sollten, um den Einsatz der Methode nicht an diesem Punkte einzuengen. In der Fällung von Calcium durch Oxalat-Ion konnte ein diesen Forderungen weitgehend entsprechender Standard gefunden werden. Eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung von Gips enthält 0,202 g/l wasserfreies  $\text{CaSO}_4$ . Versetzt man eine solche Lösung mit dem gleichen Volumen kaltgesättigter Natrium- oder Ammoniumoxalatlösung, so erhält man, ohne hiezu eine Waage zu benötigen, eine Suspension von jederzeit reproduzierbarer Dichte und von einem subjektiv den Nadelextrakten sehr ähnliche Aussehen.

Zur Herstellung des Standards geht man am besten von gefällttem Gips des Handels (z. B. Merck, Fluka etc.) aus, ebensogut ist reiner Alabastergips verwendbar. Von diesem gibt man einige Gramm in 100 ml deionisiertes Wasser. Der sich absetzende Gips wird mehrere Male durch Schwenken aufgewirbelt. Natrium- oder Ammoniumoxalat sollte von p. a.-Qualität sein. Man gibt davon etwa 20 g in 100 ml deionisiertes Wasser. Unter mehrmaligem Umschwenken ist die Lösung innerhalb 24 Stunden mit Sicherheit gesättigt, sie darf gleich dem Überstand über Gips keine Spur von Trübung oder auch nur Opaleszenz zeigen; abgekochtes Wasser ist daher keinesfalls verwendbar. Man bereitet 8 Eprouvetten beliebiger Weite vor. In die erste werden 9 ml klare Gipslösung pipettiert, in die die zweite 5 ml; die restlichen Röhrrchen werden mit je 5 ml deionisiertem Wasser beschickt. Zu Röhrrchen 1 wird 1 ml Oxalatlösung zugefügt, in das zweite 5 ml (für Gips- und Oxalatlösung am besten verschiedene Pipetten benutzen!). Es bilden sich sofort milchige Niederschläge. Nach gutem Durchmischen bleiben Röhrrchen 1 und 2 24 Stunden stehen; während dieser Zeit sind die Niederschläge mehrmals durch Kippen der Röhrrchen aufzuwirbeln (Verschluß mit Gummistopfen ist zweckmäßig). Nach dem Ausfällen nehmen die Suspensionen, offenbar durch Änderung des Kristallisationszustandes, an Dichte noch zu; erst nach 24 Stunden bleiben die Werte stabil, doch ist vor längerem Stehenlassen der Fällungen abzuraten. Dann wird Eprouvette 2 gut umgeschüttelt, mit einer geeigneten Pipette werden 5 ml Suspension entnommen und in Röhrrchen 3 übertragen, nach gutem Durchmischen kommen wieder 5 ml in Röhrrchen 4 usw. bis zum letzten Röhrrchen. Man erhält so eine Konzentrationsreihe 1,9 : 1, 1 : 1, 1 : 2 usw. bis 1 : 64. Die Niederschläge setzen sich nach kurzer Zeit ab, weshalb die Suspensionen vor der Messung gut umzuschütteln sind; soferne jedoch das Licht die Suspension nicht zu knapp unterhalb des Meniskus die Flüssigkeit passiert, bleibt die Absorption durch einige Minuten unverändert. Es empfiehlt sich zwei derartige Eichreihen voneinander unabhängig herzustellen und die Ablesungen zu mitteln.

Derartige Konzentrationsreihen dienen nun als Standard. Die mit dem BioPhotoCol abgelesenen Absorptionswerte wurden in ein Koordinatensystem über den jeweiligen Konzentrationsstufen als Abszisse aufgetragen. Es



ergibt sich eine sigmoidale Kurve, die aber im Bereich der Verdünnungen 1 : 2 bis 1 : 8, also von rd. 30 bis 70% Lichtabsorption einen praktisch linearen Verlauf nimmt; dies ist auch der Bereich, in dem bei der praktischen Arbeit die meisten Trübungswerte gefunden werden. Um aber die Ablesung auch außerhalb dieses Bereiches liegender Werte zu erleichtern, vor allem aber, um das Selbstzeichnen eines derartigen Diagramms zu erleichtern, wurden die Abszissenabschnitte derart verändert, daß die sigmoidale Kurve als lineare Regression erscheint (Fig. 1, dick ausgezogene Gerade). Die Koordinaten dieser Regressionsgeraden sind in nachstehender Tabelle 4 angeführt.

Tabelle 4  
Koordinaten zu Figur 1

Verdünnung	x-Achse	y-Achse	
	x = mm	Licht- absorption A (linke Skala)	Extinktion E' (rechte Skala)
Koordinatenanfangspunkt	0	100	—
9 : 1	18	89	0,96
1 : 1	27	83,5	0,78
1 : 2	48,5	70	0,52
1 : 4	78,5	52	0,32
1 : 8	108,5	33,5	0,18
1 : 16	128,5	21	0,102
1 : 32	144,5	11,5	0,053
1 : 64	155,0	5	0,022
Koordinatenendpunkt	163,0	0	—

Die Absorptionswerte A sind auf halbe Prozent, die E'-Werte (s. u.) auf zwei Stellen gerundet, eine höhere Genauigkeit der Ablesung ist mit Photometern einfacherer Bauart in der Regel nicht erreichbar.

Die Länge der x-Achse ist so gewählt, daß die Diagonale eines darüber errichteten Rechteckes mit  $y = 100\%$  bereits die Standardgerade ergibt. In dieses Diagramm können nun die mit dem jeweils benutzten Photometer bestimmten Absorptionswerte der wie beschrieben hergestellten Standardtrübungen eingetragen werden.

Die Linie, die die so ermittelten Punkte verbindet, wird in der Regel keine Gerade sein, sondern mehr oder weniger stark gekrümmt verlaufen, zum Zeichnen benutzt man daher zweckmäßig ein Kurvenlineal. In Fig. 1 sind drei Beispiele eingetragen. Die mit einem Lange-Photometer Mod. V ermittelten Trübungen liegen etwas unterhalb der Standardgeraden (lang strichlierte Kurve 1). Hat man mit einem derartigen Photometer eine Trübung von z. B. 43% gemessen, kann man dem Diagramm entnehmen, daß die

selbe Probe im Standardgerät 56% ergeben hätte, der normierte Trübungswert beträgt somit 56% (punktierter Linienzug). Da z. B. ein Spektralphotometer praktisch kein Streulicht mitmißt, müssen die mit einem solchen Gerät gemessenen Trübungswerte wesentlich über der Standardgeraden liegen. Fig. 1 gibt als Beispiel die mit einem Beckman Modell B aufgenommene Standardwerke wieder (Kurve 2, strichpunktiert). Für eine mit diesem Gerät gemessene Trübung von 95% ergibt sich, wieder dem punktierten Linienzug folgend, eine normierte Trübung von rd. 58%. Die Gerade 1 (kurz strichliert) wurde mit dem gleichen Gerät wie die Standardgerade aufgenommen, jedoch wurden Eprouvetten mit 14,5 mm  $\varnothing$  statt der normal verwendeten 10-mm-Meßröhrchen verwendet. Die gleiche Optik führt wieder zu einer Geraden, sie liegt aber erwartungsgemäß über der Standardgeraden. Dieses Beispiel wurde nur aufgenommen, um zu demonstrieren, daß auch der Einfluß verschiedener Meßküvetten auf diese Weise eliminiert wird.

Um das Diagramm auch mit Instrumenten mit Extinktionsskalen verwenden zu können, sind auf der rechten Seite die den Absorptionswerten entsprechenden Extinktionen aufgetragen. Die Reduktion der Ablesung auf Standardwerte geht analog dem oben für die Absorption Gesagten vor sich, nur daß man statt von der linken nun von der rechten Ordinatenkala ausgeht. Einer am Beckman-Spektralphotometer abgelesenen Extinktion von 1,3 entspricht einer „Normalabsorption“ von 58%. Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert, daß zwischen der Absorption (A) und der Extinktion (E) folgende Beziehungen bestehen:  $E = \log[100/(100-A)]$  bzw.  $A = 100 - \text{antilog}(2-E)$  oder, anders geschrieben,  $A = 10^{(2-E)}$ . Man muß sich jedoch vor Augen halten, daß es sich bei den hier in Rede stehenden Fällen um keine echte Extinktion handelt (das LAMBERT-BEERSche Gesetz gilt bei trüben Lösungen natürlich nicht), sondern um eine Extinktion, an der auch gestreutes Licht mitbeteiligt ist. Um keine Irrtümer aufkommen zu lassen, sei daher dieser Wert mit E' bezeichnet.

Zur Erleichterung der Ablesung sind die 5%-Marken am rechten Rand des Diagramms als nach links (innen) gerichtete Indexstriche wiederholt, ebenso ist die Extinktionsskala am linken Rand des Diagramms durch nach rechts gerichtete Indexstriche markiert.

Trägt man die Lichtschwächungen als Extinktion, also im logarithmischen Ordinatenmaßstab, auf, so erhält man für Verdünnungsreihen der trüben Nadelextrakte in dem Bereich zwischen etwa 30 und 70% Absorption überraschenderweise eine Gerade, hingegen ist dann die Regressionslinie der Oxalat-Suspensionen gekrümmt. Wir haben jedoch aus zwei Gründen der linear (also in Prozenten Absorption) geteilten Ordinate den Vorzug gegeben. Bei logarithmischem Auftrag wären gleiche Prozentintervalle ungleich groß, was die Ablesung bzw. die Interpolation wesentlich erschweren würde; weiters würde der nur selten in Frage kommende Abschnitt 90–100% auf die gleiche Länge gedehnt werden wie das im Intervall von rd.

20 bis 90%, was in den hohen Absorptionen eine Genauigkeit vortäuschen würde, die von der Ableseung her keinesfalls gegeben ist. Das Herstellen von Standardreihen zur Eichung wäre auf keinen Fall zu umgehen. Die in Fig. 1 gewählte Darstellungsweise erlaubt es hingegen, perzentuale Skalen wie Extinktionswerte gleichermaßen zu normieren.

Die Absorptions- bzw. Extinktionskurven der mit Oxalatsuspensionen hergestellten Verdünnungsreihen verlaufen etwas flacher als Verdünnungsreihen mit Nadelextrakten. Dies fällt jedoch nicht ins Gewicht, weil die Oxalatreihen nur als tertium comparationis zur Eichung dienen und nicht unmittelbar von diesen auf Trübungswerte geschlossen wird. Hingegen könnte eine in trüben Medien die von der Wellenlänge abhängige Streuung des Lichtes zu Fehlern führen. Im mittleren Bereich, also zwischen  $A = 20-50\%$  beträgt der Unterschied zwischen der Absorption des roten und blauen Lichtes 20–25 Skalanprozent! Die Dispersion ist bei den Oxalatsuspensionen infolge der doch größeren Teilchen etwas geringer als bei Nadelextrakten. Es wurde bereits in der Originalvorschrift (HÄRTEL 1953, 1960) empfohlen, nicht mit weißem, sondern mit gelbem Licht ( $\lambda = 600 \text{ nm}$ ) zu photometrieren, um Fehler durch eine allfällige leichte Gelbfärbung der Dekokte nach Möglichkeit zu unterdrücken. Eine derartige Vorsichtsmaßnahme ist auch im Hinblick auf die Vermeidung eines Spektralfehlers zweckmäßig. Spektralphotometer bieten ja keine Möglichkeit zur Messung im weißen Licht; man wählt zweckmäßig  $\lambda = 600 \text{ nm}$ ; dann können solche Messungen mit denen von Filerphotometern, sofern sie hinter Gelbfiltern des gleichen Filterschwerpunktes durchgeführt werden, ohne weiteres verglichen werden. Steht kein derartiges Filter zur Verfügung, können unbedenklich Filter mit Schwerpunkt zwischen  $\lambda = 560$  und  $650 \text{ nm}$  benützt werden, es entsteht dadurch, sofern die Eichung und Messung mit den selben Filtern erfolgen, kein das Meßergebnis erkennbar beeinflussender Fehler.

### Folgerungen

Auf Grund der hier mitgeteilten Untersuchungen erscheint es angezeigt, im Hinblick auf eine mögliche Verringerung der oft störenden erheblichen Streuungen sowie der Vergleichbarkeit der mit verschiedenen Geräten ausgeführten Messungen die eingangs wiedergegebene ursprüngliche Vorschrift zur Durchführung des Trübungstests in einigen Punkten zu ergänzen.

a) Es sollten nur vorgewaschene Nadeln zum Test verwendet werden, Detergentien sind dabei jedoch zu vermeiden.

b) Zur Extraktion sind unbedingt gleichartige Eprouvetten zu verwenden, ihr Durchmesser (lichte Weite) soll zwischen 14,5 und 17 mm liegen. Die mit den Nadelproben beschickten Eprouvetten (das Verhältnis 2 g Nadeln auf 12 ml  $\text{H}_2\text{O}$  soll strikt eingehalten werden) sind in das bereits siedende Glycerinbad einzusetzen und sollten darin möglichst frei stehen;

die Benützung eines Eprovetteneinsatzes ist zu empfehlen, notfalls ist die Lage der Eprovetten während des 12minütigen Kochens mehrere Male zu ändern.

c) Die Messung der Lichtabsorption der Nadeldekotte soll mit gelbem Licht erfolgen ( $\lambda = 600$  nm bzw. Filterschwerpunkt  $600 \pm 50$  nm).

d) Es wird eine graphische Methode angegeben, die mit beliebigen Photometern erhaltenen Meßwerte auf eine konventionelle Skala zu normieren. Das hierfür erforderliche Netz kann auf Grund der mitgeteilten Koordinaten leicht nachgezeichnet werden, es kann aber auch beim erstgenannten Autor (H.) angefordert werden.

#### Literatur

- DÄSSLER H. G. 1964. Probleme der forstlichen Rauchschadensforschung. – Biol. Zbl. 82 217–288.
- FUCHSHOFER H. 1985. Untersuchungen zum Trübungstest nach HÄRTEL. – Diss. Graz.
- & HÄRTEL O. 1985. Zur Physiologie des Trübungstests, einer Methode zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen. – Phyton (Austria) 25: 277–291.
- GRILL D. & HÄRTEL O. 1973. Abgasschäden in 1000 m Höhe? – Wetter und Leben 25: 91–95.
- HÄRTEL O. 1953. Eine neue Methode zur Erkennung von Raucheinwirkungen an Fichten. – Zbl. ges. Forst- u. Holzw. 72: 12–21.
- 1960. Über neue Erfahrungen mit dem Trübungstest, insbesondere seine Eignung zur fortlaufenden Kontrolle von Abgasschäden. – Forst- u. Holzwirt 15: 260–262.
- 1972. Langjährige Meßreihen mit dem Trübungstest an abgasgeschädigten Fichten. – Oecologia 9: 103–111.
- KELLER Th., SCHWAGER H. & YEE-MEILER D. 1976. Der Nachweis winterlicher  $\text{SO}_2$ -Immissionen an jungen Fichten. Ein Vergleich dreier Methoden. – Eur. J. Forest. Pathol. 6: 244–249.
- PELZ E. & DELLING W. 1964. Untersuchungen über die Anwendbarkeit des Trübungstests nach HÄRTEL bei der Diagnose von Rauchschäden an Tanne. – Wiss. Z. Techn. Univ. Dresden 12: 533–541.
- STEINHÜBEL G. 1957. Anwendung des HÄRTELSCHEN Trübungstests bei der Feststellung von Schäden durch Rauchgase. – Biológia (Bratislava) 12: 611–617.



# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn](#)

Jahr/Year: 1987

Band/Volume: [26\\_2](#)

Autor(en)/Author(s): Härtel Otto, Fuchshofer Heinz

Artikel/Article: [Methodische Ergänzungen zum Trübungstest zur Bioindikation von Abgaswirkungen auf Koniferen. 235-246](#)