

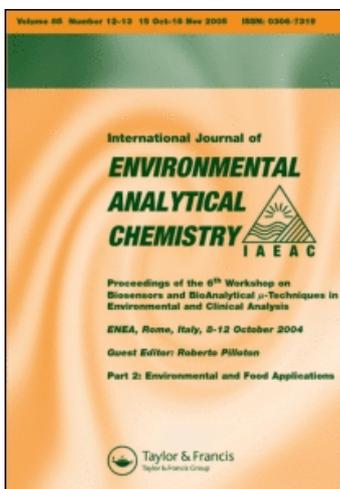
This article was downloaded by:

On: 19 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



International Journal of Environmental Analytical Chemistry

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713640455>

Optische Veränderungen in Homogenisaten SO₂-geschädigter Fichtennadeln

Dieter Grill^a

^a Aus dem Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen, Universität Graz, Graz, Schubertstrasse 51, Österreich

To cite this Article Grill, Dieter(1972) 'Optische Veränderungen in Homogenisaten SO₂-geschädigter Fichtennadeln', *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1: 4, 293 – 300

To link to this Article: DOI: 10.1080/03067317208076381

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/03067317208076381>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Optische Veränderungen in Homogenisaten SO₂-geschädigter Fichtennadeln†

DIETER GRILL

*Aus dem Institut für Anatomie und Physiologie der Pflanzen,
Universität Graz, A-8010 Graz, Schubertstrasse 51, Österreich*

(Received November 9, 1971)

Filtrates of spruce needles (*Picea abies* (L.) Karsten) have been analysed spectrophotometrically. The filtrates show u.v. absorption maxima in the wavelength range of 263 to 277 nm, which is caused by phenolic compounds present in the spruce needles. Special attention is paid to *p*-oxyacetophenone, both as an aglycon (λ_{\max} , 275 nm) and as the glycoside Picein (λ_{\max} , 263 nm). The position of the maximum of u.v. absorption depends on both seasonal and external influences (for example SO₂) on the spruce needles. Comparison of the maxima of u.v. absorption for exposed and non-exposed needles during the summer reveals significant differences which can be used as an additional aid to diagnose gas damages by air pollutants.

Filtrate von Fichtennadeln werden einer spektralphotometrischen Untersuchung unterzogen. Die Filtrate sind UV-aktiv und die Absorptionsmaxima liegen in einem Wellenbereich zwischen 263 und 277 nm. Für die UV-Aktivität kommen mehrere, in den Nadeln vorhandene Substanzen phenolischen Charakters in Frage. Hauptaugenmerk wird auf das *p*-Oxyacetophenon als Aglucon (UV-aktiv bei 275 nm) oder glucosidisch gebunden (Picein, 263 nm) gelegt. Die Lage des UV-Absorptionsmaximums ist einerseits jahreszeitlich bedingt, andererseits durch äußere Einflüsse auf die Nadeln: z.B. SO₂. Bei Vergleich der Lage von UV-Absorptionsmaxima unbelasteter und belasteter Nadeln in Sommer ergeben sich signifikante Unterschiede, worauf die Brauchbarkeit als weiteres Hilfsmittel zur Rauchscheidungsdiagnose beruht.

† Erweiterte Fassung eines Referates, gehalten auf der Tagung der Gesellschaft für Ökologie in Konstanz am 8.10.1971.

EINLEITUNG

Wie Grill¹ bei Titration von Fichtennadel-Homogenisaten auf Grund des pK-Wertes feststellen konnte, nimmt die Menge dissozierbarer phenolischer OH-Gruppen mit dem Entwicklungszustand zu. Außerdem fiel bei der Titration ein Farbumschlag des Homogenisates in Brauntöne auf, sobald der pH alkalisch wurde. Diese Braunfärbung wurde als Oxydationsprozeß von Phenolen gedeutet. Weiters ist die auftretende Trübung bei der Bestimmung von SO₂-Belastung an Fichtennadeln nach Härtel² noch nicht geklärt; Mitwirkung phenolischer Substanzen wäre denkbar. Diese Faktoren ließen weitere Untersuchungen auf diesem Stoffgebiet interessant erscheinen. So wurde mit Untersuchungen im UV-Spektralbereich begonnen, um auf diese Weise Aufschlüsse über die aromatische Komponente zu bekommen.

MATERIALUND METHODIK

Für die Untersuchungen wurden Nadeln von Fichten aus abgasfreien und immissionsgefährdeten Gebieten in der Steiermark herangezogen. Daneben wurden auch Fichten verschiedener Höhenstufen und ökologischer Bedingungen sowie unterschiedlichen Alters verglichen und auch Bäume, deren Nadeln aus anderen Ursachen, wie Insektenbefall, gelbgrün oder bräunlich verfärbt waren und krank erschienen, in die Untersuchung einbezogen.

Spektralphotometrische Untersuchungen

Die Nadeln sollen möglichst bald nach dem Sammeln verarbeitet werden. Frische Nadeln (2g) werden im Ultraturrax-Mixer mit etwas H₂O homogenisiert und dieses filtriert (S & S Selecta 602 eh). Das Filter wird gut nachgewaschen, das Filtrat zunächst auf 30 ml aufgefüllt. (Die Extrakte wurden sobald als möglich im Unicam SP 800 bzw. Beckman DB spectrophotometriert—1 cm Quarzküvetten.) Als Vergleich dient eine mit Wasser gefüllte Küvette gleicher Art; Wasser eignet sich gut für die UV-Spektrophotometrie³ und bietet zudem den Vorteil, das wäßrige Filtrat sofort im UV untersuchen zu können. In der Regel wird es erforderlich sein, das Filtrat so weit zu verdünnen, daß die Absorptionsmaxima in den optimalen Meßbereich des Gerätes fallen. Ist eine sofortige Messung nicht möglich, ist es günstig, die Proben dunkel und kühl aufzubewahren.

Trübungstest nach Härtel²

Frische Nadeln (2 g) werden in einem Reagenzglas mit 10 ml H₂O übergossen, die Röhrchen in ein Glycerinbad gestellt und zum Sieden gebracht. Nach 12 Min gleichmäßigen Kochens werden die Röhrchen aus dem Bad

genommen, der Extrakt sofort dekantiert und mit H_2O auf das ursprüngliche Volumen ergänzt. Nach dem Abkühlen wird der Extrakt photometriert und die Lichtabsorption in Prozenten angegeben. Als Vergleich dient eine mit H_2O gefüllte Küvette (0% Absorption); je stärker die Nadeln durch Abgase geschädigt sind, desto größer ist im allgemeinen die so erhaltene Trübung.

ERGEBNISSE

UV-Absorption der Nadelfiltrate

Die Messungen wurden von Mitte Juli bis Mitte September 1969 durchgeführt.

Nadeln aus abgasfreien Gebieten. Die Filtrate von diesjährigen gesunden Fichtennadeln zeigen bei 265–267 nm ein deutliches Absorptionsmaximum, wobei die Lage unabhängig von der Konzentration des Filtrats ist.

Filtrate von krank aussehenden Fichtennadeln hatten ihr Absorptionsmaximum bei annähernd gleicher Wellenlänge wie Filtrate gesunder Nadeln. Geringe Abweichungen waren einerseits bei einigen Bäumen der alpinen Kampfzone zu finden, deren Maximum lag bei 164–265 nm, andererseits lag das Maximum von Nadeln stark von Insekten befallener Bäume (z. B. Kermes-Gallen) bei 268–269 nm.

Bei Nadeln aus dem Vorjahr ist das Absorptionsmaximum etwas ins längerwellige UV verschoben (269–272 nm), bei Nadeln aus alpinen Kampfzonen liegt es um 267 nm.

Nadeln aus Rauchschadensgebieten. Die Untersuchungen wurden von Mitte Juli bis Mitte September an jungen Fichtennadeln durchgeführt. Die Stärke der SO_2 -Schädigung wurde nach dem Grad der sichtbaren Schädigung und dem Trübungstest beurteilt.

Mit zunehmender Beeinflussung der Nadeln durch SO_2 läßt sich somit eine fortschreitende Verschiebung des Absorptionsmaximums in längerwelliges Gebiet feststellen (Abb.). Ihr Ausmaß kann mehr als 10 nm betragen. Bei einigen Filtraten war ein zusätzliches Maximum im Bereich von 305–320 nm schwach, oft nur in Form einer Schulter, vorhanden (vgl. Abb.). Solche Filtrate stammten hauptsächlich von Fichten, die entweder starken Begasungen ausgesetzt oder aber auch stark vergallt waren.

Die aus der Tabelle ersichtliche Parallelität zwischen Schädigungsgrad und Lage des Absorptionsmaximums der Filtrate erscheint in einigen Fällen auffällig durchbrochen. So verdient die Tatsache Beachtung, daß Filtrate von Nadeln, die durch SO_2 offensichtlich akut geschädigt waren, ein dementsprechendes Absorptionsmaximum bei 275 nm aufwiesen, der Trübungstest jedoch normale Werte ergab; es ist auch aus früheren Erfahrungen bekannt,

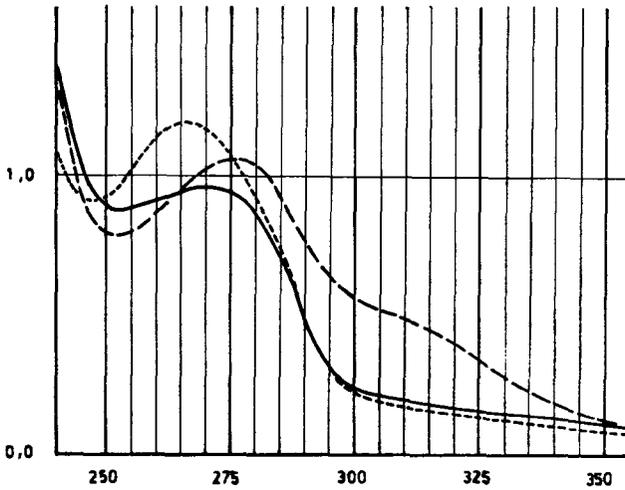


ABBILDUNG 1 UV-Absorptionskurven von Fichtennadelfiltraten. Unbelastete Nadeln ---, chronisch geschädigte Nadeln—, akut geschädigte Nadeln - - -

TABELLE

Schädigung durch SO₂ und Lage des Absorptionsmaximums der Filtrate

Herkunft		UV-Absorptionsmaximum (nm)	Trübungstest % Lichtabsorption
emissionsfreies Gebiet	1	265–267	18–25
	2	268–269	20
Stadtatmosphäre	3	271–273	20–22
	4	267	20
Rauchschadensgebiet	5	267–270	23–35
	6	271–274	40–65
	7	275–277	55–80
	8	269–275	20–23

Legende zur Tabelle:

- 1 = keine Schädigung festzustellen
- 2 = von Kermesgallen stark befallener Baum
- 3 = keine sichtbare Schädigung
- 4 = ± SO₂ resistenter Baum
- 5 = junger Nadeljahrgang ohne sichtbare Schädigung, 5 Nadeljahrgänge vorhanden, ältere aber manchmal z.T. verfärbt, dicht benadelt
- 6 = junge Nadeln ohne sichtbare Schädigung, höchstens 3 Nadeljahrgänge vorhanden, ältere Jahrgänge oft z.T. verfärbt ± schütter
- 7 = junge Nadeln ohne sichtbare Schädigung 2 (3) Jahrgänge vorhanden, alle ± verfärbt, schütter
- 8 = junger Nadeljahrgang z.T. verätzt und kurzadelig, schütter, alte Nadeljahrgänge ± vorhanden, verfärbt

daß dieser Test erst nach einiger Zeit anspricht und Nadeln jenseits eines bestimmten Schädigungsgrades überhaupt nicht mehr reagieren können. Für Nadeln nahe der letalen Schädigung läßt sich auch anhand der UV-Absorption keine Aussage mehr machen. Stark von Schädlingen befallene Fichten können auch in abgasfreien Gebieten eine geringe Verschiebung des UV-Absorptionsmaximums der Nadelfiltrate zeigen, was eine schwache Schädigung vortäuschen könnte, der Trübungstest gibt jedoch keinerlei Hinweis darauf.

Beim Vergleich von Trübungswerten und UV-Absorption ist auch zu berücksichtigen, daß jene erst im Spätherbst zuverlässigere Werte ergeben, die UV-Kurven aber bereits in den Monaten Juli bis September aufgenommen wurden, weil sich in dieser Zeit die klarsten Unterschiede ergeben (vg. Jahresgang). Von den genannten Ausnahmen abgesehen ordnen sich aber die nach den beiden Verfahren geprüften Proben übereinstimmend in die in der Tabelle ausgeschiedenen Schädigungsgruppen ein.

Lagerung

Diese Frage ist insofern von Bedeutung, als die Nadelproben auf Grund des apparativen Aufwandes nicht an Ort und Stelle untersucht werden können. Filtrate zeigen keinen Unterschied in der Lage des Absorptionsmaximums, solange die Fichtenzweige turgeszent sind. Ein Transport von zahlreichen Zweigen in Papiersäcken, aber gut verpackt, wirkte sich auch nach zwei Tagen nicht aus. Fichtennadeln wurden bei Zimmertemperatur luftgetrocknet; dabei zeigte sich, daß sich das Maximum der UV-Absorption in Bereiche größerer Wellenlängen verschob: 265 → 273; 270 → 275 z.B.

Jahresgang in der UV-Aktivität von Nadelfiltraten

Die hellgrünen, noch nicht verfestigten Nadeln des Neutriebes (Mai) haben in ihren Filtraten im kritischen Wellenbereich nirgends das gesuchte UV-Absorptionsmaximum ausgeprägt; an seiner Stelle ist bloß ein konstanter Kurvenanstieg zwischen 200–290 nm zu finden. Mit fortschreitender Nadelentwicklung tritt Anfang Juni in den UV-Absorptionskurven schon häufig eine Schulter, vereinzelt auch ein angedeutetes Maximum auf. Die Schulter beginnt zwischen 262 und 266 nm und endet bei 278–280 nm. Bezüglich der Lage der Schultern bzw. Maxima ist noch kein Unterschied in der Wellenlänge zwischen ungeschädigt und abgasbelastet zu beobachten. Ende Juni sind nun deutlich ausgeprägte UV-Maxima in den Filtraten zu erkennen. Die Maxima liegen sowohl bei unbelasteten wie auch von SO₂ beeinflussten Bäumen im Wellenbereich von 263–265 nm.

Im Jahre 1970 war die Vegetation durch ungünstige Witterung im Vergleich zu 1969 um 3–4 Wochen zurückgeworfen. Zu gleichen Ergebnissen, wie sie im Vorjahr gewonnen wurden und oben angeführt sind, gelangte man deshalb erst Mitte Juli. Im Herbst (Ende Oktober) kann man bei unbelasteten und SO₂-begasten Fichtennadeln im Vergleich zu vorhergehenden Monaten eine Verschiebung des UV-Maximums im Bereiche größerer Wellenlängen feststellen: unbelastet 267–271 nm (Sommer 265–267 nm), begast bis 277 nm. Man kann die verschieden stark geschädigten Bäume mittels UV-Absorption nur noch schwer voneinander abgrenzen. Diese Verlagerung des UV-Absorptionsmaximums geht bei einzelnen Bäumen verschieden schnell vor sich, was große Streuungen zur Folge hat. Nur im Stadtgebiet von Graz tritt sie ziemlich übereinstimmend auf: hier korreliert der Zeitpunkt mit dem Beginn der Keizperiode. In dieser Jahreszeit treten auch öfters als im Sommer Schultern im Wellenbereich von 305–320 nm auf. Die Lage des UV-Absorptionsmaximums ändert sich nun während der Wintermonate nicht mehr und bleibt auch bei überwinterten Nadeln zur Zeit des Austriebes unverändert.

Chemische Natur der UV-aktiven Substanzen

Im Bereich von 260–280 nm, in dem die Fichtennadelfiltrate absorbieren, liegen UV-Absorptionsmaxima von Substanzen verschiedenartiger Natur: Aromaten, Substanzen mit konjugierten Doppelbindungen wie z.B. Terpene.^{3,4} Da das UV-Maximum im Bereich von 264–277 nm überall auftreten kann, ist es naheliegend anzunehmen, daß die UV-Absorptionskurve eine Einhüllende mehrerer UV-aktiver Komponenten ist, wobei durch Vorherrschen einer Einzelkomponente die Lage des Maximums bestimmt wird.

Erste chemische Untersuchungen nach den für das UV-Maximum in Frage kommenden Substanzen deuten mit großer Wahrscheinlichkeit auf ein sehr einfach gebautes Phenol mit großer UV-Aktivität, das auch glucosidisch gebunden vorliegen kann. In den Fichtennadeln kommt eine solche Substanz vor: Picein (*p*-Oxyacetophenon), glucosidisch gebunden.^{5,6} Für das Picein sprechen Befunde, die papierchromatographisch gewonnen wurden, weiters solche mit infrarot und NMR). Das UV-Absorptionsmaximum wurde beim Kontrollpräparat (Fluka A. G., Chemische Fabrik, CH-9470 Buchs, Schweiz) bei 263 nm für das Glucosid und 275 nm für das Aglucon gefunden. Säurehydrolyse mit konz. HCl und Erwärmen, bzw. Einwirkung von β -Glucosidase während 24 hr bei 35°C zeigen eine UV-Absorptionsverschiebung von 263 auf 275 sowohl beim Kontrollpräparat als auch bei Fichtennadelfiltraten. Durch unterschiedliche Mengen an Glucosid und Aglucon in den Nadeln wird somit die Lage des UV-Maximums bestimmt.

Den zahlreichen polyphenolischen Substanzen, die Gymnospermen synthetisieren können,^{5,7} dürfte nach den ersten Untersuchungen nicht die wesentliche Rolle in der UV-Absorption zukommen. Ihre Oxydationsprodukte sind aber möglicherweise für die Schulter im Bereich von 305–325 nm verantwortlich.

DISKUSSION

Zieht man das Picein als Hauptkomponente der Ausbildung des UV-Absorptionsmaximums in Betracht, könnte man die jahreszeitlich bedingte Verschiebung der Lage des Maximums hypothetisch folgendermaßen erklären: Mit zunehmendem Alter ändert sich das Verhältnis Glucosid und Aglucon, wobei der Gehalt an Aglucon größer wird; sei es z.B. durch Glucosid-Spaltung oder Bereitstellung des Aglucons ohne anschließender glucosidischer Bindung. Gegen die erste Möglichkeit sprechen Befunde von Däßler,⁸ wonach die Glucosidase-Aktivität bei experimentell rauchgeschädigten Hölzern abnimmt.

Nach Kerstan⁹ weist der Heterosid-Umsatz deutlich Parallelen zum Kohlehydratumsatz auf; so ist ein verminderter Piceingehalt (Glucosid) vielleicht mit einer geringeren Assimilation in Zusammenhang zu bringen; dabei ist aber zu beachten, daß die Aglucone \pm labil sind.⁹ Freie Flavonol-Aglucone z.B. treten in der Natur nur selten auf. Sie wurden in Kernhölzern, ätherische Öle produzierenden Organen, und auch Knospen, gefunden.¹⁰ Eine endgültige Klärung wird erst nach weiteren eingehenden Studien über Substanzen aromatischen Charakters in Fichtennadeln möglich sein.

Bei rauchgeschädigten Nadeln kommt es anscheinend zu einer vorzeitigen Alterung und dadurch zu Divergenz in der Lage der UV-Maxima im Vergleich zu den ungeschädigten Nadeln im Sommer; auch wenn diese durch Frost oder nicht zu starken Schädlingsbefall Krankheitssymptome aufweisen. Da sich die Lage der UV-Absorptionsmaxima unbelasteter Nadeln in signifikanter Weise von der begaster Fichtennadeln unterscheidet, wäre diese Methode als Ergänzung zu bisher verwendeten Rauchschaadentests gut heranzuziehen, wobei allerdings die Anwendung jahreszeitlich begrenzt ist.

An der endgültigen Beweisführung, bzw. an der Frage, wie stark andere optisch wirksame Substanzen am UV-Absorptionsmaximum des Fichtennadelfiltrats beteiligt sind, wird noch gearbeitet.

Danksagung

Den Herren Dr. Dierk Knittel, derzeit am Reaktorzentrum Jülich, BRD, und Doz. Dr. Heinz Sterk vom Institut für organische Chemie in der Universität Graz möchte ich für die Diskussion bzw. für das Zurverfügungstellen der notwendigen Apparate danken.

Literatur

1. D. Grill, *Z. Pflanzenkrankh.*, im Druck.
2. O. Härtel, *Der Forst- und Holzwirt* **15**, Heft 13 (1960).
3. J. Derkosch, *Methoden der Analyse in der Chemie*. Absorptions-spektralanalyse im ultravioletten, sichtbaren und infraroten Gebiet (Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/M. 1967), Bd.5.
4. UV-Atlas organischer Verbindungen (Deutsche Gesellschaft für Molekülspektroskopie) (Verlag Chemie, Weinheim, 1966).
5. R. Hegnauer, *Chemotaxonomie der Pflanzen* (Birkhäuser Verlag, Basel-Stuttgart, 1962).
6. A. Stoll und E. Jucker, Heteroside, Aufbau und Vorkommen. In: W. Ruhland, *Handb. Pflanzenphysiol.* (Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958), Bd. VI, 534–770.
7. J. B. Harborne, *Comparative Biochemistry of the Flavonoids* (Academic Press, London-New York, 1967).
8. H. G. Däßler, *Wiss. Z. TU Dresden* **11**, 567 (1962).
9. G. Kerstan, Die Speicherung und Mobilisierung der Heteroside. In: W. Ruhland, *Handb. Pflanzenphysiol.* (Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958), Bd. VI, 799–813.
10. K. Egger, E. Wollenweber, und M. Tissut, *Z. Pflanzenphysiol.* **62**, 464 (1970).