

## Strategien des Austausches von Makronährstoffen zwischen Pflanze und Boden 809325 UE, VO, 4 St.

### - Der Inhalt

Dieses Praktikum soll unterschiedliche Strategien von Pflanzen zur Verteilung assimilierten Kohlenstoffs in ihren Organen und in ihrem Lebensraum sowie den damit verbundenen speziellen Mineralstoffhaushalt demonstrieren. Maniok und Zuckerrohr sind zwei Kulturpflanzen mit stark unterschiedlichen Anforderungen an den Boden: Zuckerrohr kann jahrzehntelang an der selben Stelle in Monokultur gezogen werden, während Maniok nach zwei bis drei Jahren einen Fruchtwechsel erfordert.

Dies liegt vor allem daran, dass Maniokmonokulturen den Mineralstoffgehalt des Bodens sehr stark vermindern und wenig bodenbildendes Wuzelmaterial produzieren, Zuckerrohr aber gewaltige Wurzel-mengen bildet und zusätzlich noch Stickstoff mittels symbiotischer Bakterien in der Epidermis fixieren kann.

Die unterschiedliche Verteilung von Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen in Blatt, Wurzel und Boden, welche diesen Strategien zu Grunde liegt, wird mittels Analyse von Mineralstoffen, Zuckern, Gesamtkohlenstoff, dem C/N Verhältnis, sowie der Verteilung stabiler N- und C- Isotope zu zeigen sein.

### - Der Ablauf

Der Versuchsansatz für diese Übung besteht aus insgesamt 6 Teilansätzen: Maniok und Zuckerrohr in Misch- und Monokultur, sowie jeweils auch unter leichtem Nährstoffmangel und unter optimaler Versorgung. Die Abkürzungen lauten **M+**, **M-**, **Z+**, **Z-**, **MZ+**, **MZ-**

Es werden 2 Arbeitsgruppen gebildet. Jede Gruppe erhält 6 Töpfe (je 2 aus einem Teilansatz) Wenn nicht anders angegeben, werden immer Blatt (BL), Wurzel (WU) und Boden (BO) analysiert, fallweise auch der Sproß incl. Blattstiel (SP).

1.	Kurstag	MO: Biometrie, Bodensieben, Wurzelwaschen, Trocknen, Mahlen Ansatz pH Böden, Extraktion für BIOLOG Inkubation und erste Messung BIOLOG	8:30-17:00
2.	Kurstag	DI: Messung BIOLOG (Morgens und Abends bis FR Morgen!) Mahlen, Extraktion der Pflanzen und Böden (A.d. und HCl) Bodentmung BR Grundumsatz: SIR am Abend Messung pH Böden	8:00-17:00
3.	Kurstag	MI: Einwaage C/N (auch Spross) Glucose/Sacharose enzymatisch Vorbereitung für AAS (Blatt, Boden, HWE und SE) Vorbereitung für HPLC Zucker (Standards!) (Spross, Wurzel, Blattstiel)	8:30-17:00
4.	Kurstag	DO: HPLC Zucker (10:00, 14:00) AAS der Mineralstoffe u. Auswertung	8:30-17:00
5.	Kurstag	FR: AUSWERTUNG und Abschluss	8:30-17:00

## Messparameter und Probenvorbereitung

Messparameter	Extrakt/Material		Methodik/Analysegerät
Masse FG, TG	BL, WU, SP, BO		
K <sup>+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Na <sup>+</sup>	BL, WU, BO	HWE <sup>1</sup> , SRE <sup>2</sup>	Atomabsorption
Zucker HPLC	BL, SP, WU	HWE	HPLC
Zucker enzymatisch	BL, SP, BO	HWE	Photometer
Gesamtstickstoff (C/N)	BL, SP, WU, BO	TM-Pulver <sup>3</sup>	Elementaranalysator
pH-Wert	BO	HWE <sup>1</sup> , KCL	pH-Messung
BIOLOG	BO	Ringer-Extrakt	Microplatte, Photometer
Bodenatmung BR, SIR	BO	Frischboden 2mm	URAS

Abkürzungen:

<sup>1</sup>, Heißwasser-Extrakt; <sup>2</sup>, Säure-Extrakt, <sup>3</sup> Gemahlenes Trockenmaterial

## Probenvorbereitung der Pflanzen

### Trocknungsmethoden

#### *Mikrowelle*

Frisches Pflanzenmaterial kann schnell und schonend auch in einem Mikrowellenherd getrocknet werden. Dazu wird die Probe in eine offene Petrischale eingewogen und im Mikrowellenherd (ca. 2500 MHz, 600 - 1000 Watt) für etwa 10 min bis 20 min getrocknet. Unbedingt notwendig ist dabei, daß im Mikrowellenherd auch eine Gefäß mit Wasser, als eine Art Puffer, eingebracht wird. Das Gefäß sollte mindestens einen halben Liter Wasser (möglichst große Oberfläche) enthalten. Die Reproduzierbarkeit und Übereinstimmung mit anderen Methoden ist für die meisten organischen Inhaltsstoffe (Kohlenhydrate, organische Säuren, Aminosäuren) sehr gut. Der Wassergehalt der im Mikrowellenherd getrockneten Proben ist mit dem gefriergetrockneter Proben vergleichbar.

#### *Trockenschrank*

Frisches oder in der Mikrowelle vorbehandeltes Pflanzenmaterial wird in Papiersäcke eingewogen und im (vorgeheizten) Trockenschrank bei 105 °C getrocknet. Diese Methode ist vor allem für Mineralstoffanalysen geeignet. Sollen darüberhinaus auch organische Säuren quantitativ erfaßt werden, so ist eine schonendere Trocknung bei 80-95 °C vorzuziehen. Die Dauer der Trocknung liegt zwischen 12 und 36 Stunden.

## Herstellung und Aufbewahrung des Pflanzenpulvers

Die getrockneten Pflanzenteile werden in einer Schwing- oder Kugel-Mühle feinst vermahlen. Bei stark verholzten Proben (Zweige, Wurzeln, ect.) ist es unbedingt erforderlich zuerst eine grobe Zerkleinerung des Materials vorzunehmen (z.B. Häckseln).

Die Aufbewahrung des getrockneten Pulvers erfolgt in verschließbaren Gefäßen in einer Kunststoff-Tonne über einem Trocknungsmittel mit Indikator (Blaugel, Phosphorpentoxid, ect.). Das Pulver ist vor Verwendung gut zu durchmischen, da es sonst durch unterschiedliche Korngrößen zu inhomogener Probennahme kommen kann.

## Herstellung von Extrakten aus Pflanzenpulvern

- ! Wir stellen jeden Extrakt 2 mal her, da sonst die nötigen Mengen nicht erreicht werden ! -

#### *Heißwasserextrakte*

Getrocknetes (Mikrowelle oder Trockenschrank) und gemahlenes Pflanzenmaterial (40mg) wird genau in 2 mL Eppendorf-Proberöhrchen eingewogen, 1 mL A. dest. wird dazupipettiert, die Röhrchen werden verschlossen und mit einer Plastikspange gesichert. Danach werden die Röhrchen für 30 min im kochenden Wasserbad inkubiert, nach dem Abkühlen zentrifugiert und der Überstand in frische 1.7 mL Röhrchen mit Schraubverschluß transferiert. Heißwasserextrakte werden eingefroren aufbewahrt.

#### *Säureextrakte*

Getrocknetes und gemahlenes Pflanzenmaterial wird ebenfalls in Eppendorf Reaktionsgefäßen eingewogen (Endkonzentration ca. 1% w/v) und mit 1 N HCl übergossen. Der Ansatz wird danach am Wasserbad etwa 30 min gekocht, danach abgekühlt, zentrifugiert und in Frische Röhrchen abdekantiert und der Extrakt bei Raumtemperatur aufbewahrt.

## Probenvorbereitung der Böden

### Vorbereitung und Lagerung der Böden

Mischproben werden im naturfeuchten Zustand mit einem Bodensieb zuerst grob (5 mm) und danach fein (2 mm) gesiebt. Sollte die Feuchtigkeit der Böden zu hoch sein, so müssen die Böden vor dem Sieben bei 4 °C angetrocknet werden. Nach dem Sieben werden verbliebene Wurzelstücke entfernt, die Böden in Plastiksäcke abgefüllt und bei 4 °C im Kühlraum gelagert. Sollte zwischen der Aufsammlung der Böden und den Analysen mehr als 4 Wochen vergehen, ist es notwendig die Böden tiefzufrieren. In diesem Fall sollten die Böden mindestens 48 Stunden vor der Probennahme bei 4 °C aufgetaut werden.

### Trocknung des Bodens und Bestimmung des Wassergehaltes

Ca. 5 g Boden wird in einem Aluminiumgefäß bei 95 °C im Trockenschrank für 48 h getrocknet. Aus der Differenz von Frischmasse und Trockenmasse errechnet sich der Wassergehalt des Bodens.

Der so getrocknete Boden wird im Exsikkator aufbewahrt und kann zur Bestimmung des Kohlenstoff/Stickstoff-Verhältnisses in der Schwingmühle gemahlen werden.

Für die Extrakterstellung können die Böden auch luftgetrocknet werden. Zur Berechnung des Korrekturfaktors zwischen luftgetrockneten und im Trockenschrank getrockneten Böden, muß dann eine Vergleichsprobe beiden Trocknungsmethoden unterzogen werden.

### Herstellung von Bodenextrakten

#### *Wasserextrakt*

Etwa 3 g gesiebter, luftgetrockneter (oder naturfeuchter) Boden wird mit 7.5 mL A. dest. bzw. auch mit 7,5 ml 0,1 N CaCl versetzt und 12 h bei Zimmertemperatur inkubiert und dabei auf dem Kreisschüttler geschüttelt. Diese Extrakte werden direkt für die Messung des pH-Wertes eingesetzt.

Für andere Analysen (Zucker) wird ein weniger konzentrierter Extrakt hergestellt (0,1 g auf 1 mL, i.e 10% ig), abzentrifugiert und danach filtriert. Der Wasserextrakt wird eingefroren aufbewahrt.

#### *Säure-(HCL-Extrakt)*

Siehe Säureextrakt von Pflanzenpulver, ebenfalls 10 % ig.

## Analysenmethoden

### Elektrochemische Methoden

#### *Bestimmung von pH-Wert*

*Prinzip:* Der pH-Wert (negativer Logarithmus der  $\text{H}_3\text{O}^+$ -Konzentration) ist ein Maß für die Menge der frei in Lösung vorliegenden Protonen. Man spricht beim pH-Wert auch von der *aktuellen Acidität*. Zur Erfassung der *potentiellen Acidität* hingegen wird ein Extrakt mit Lauge bis etwa pH 9 titriert, um auch solche Protonen zu erfassen, die bei physiologischen pH-Werten nicht in dissoziierter Form vorliegen.

Für Pflanzenpresssäfte werden Blattproben (etwa 2g) eingefroren und dann mit einer Knoblauchpresse mit Filterpapier einlage gepresst. 60µl des Extraktes werden mit einer Kolbenhubpipette aufgesogen und auf die Meßfläche einer ISFET ( Ionen Sensitiver Feld Elektronen Transistor)-Elektrode pipettiert. Bodenextrakte sollten über Nacht abstehen, da aufgeschlämmtes Sediment die pH-Messung empfindlich beeinflusst.

### Atomabsorptions-Spektralphotometrie (AAS)

*Prinzip:* Die Analysenlösung wird über ein entsprechendes Zerstäubersystem in eine Flamme eingebracht (Standardflamme: Luft-Acetylen, Spezialflamme für Ca-Bestimmung: Lachgas-Acetylen); das zu messende Element wird in der Hitze (ca. 2300 °C) atomisiert. Durch die Flamme wird gleichzeitig das Licht einer Hohlkathodenlampe geschickt: das sind Gasentladungslampen, deren hohlzylindrische Kathode aus dem Material des Meßelementes besteht, und die daher intensiv gebündelte, elementspezifische Strahlung abgeben (=Resonanzfrequenz des entsprechenden Metalls, vgl. die bekannten Natriumdampf lampen). Die freien Atome in der Flamme absorbieren nun Licht der Hohlkathodenlampe und gehen dabei in den "angeregten Zustand" über, das heißt ihr(e) (Valenz)elektron(en) bzw. -elektronensysteme nehmen einen Zustand höherer Energie ein. Die dabei eintretende Schwächung des Hohlkathodenlampen-Lichtes kann als Messsignal registriert werden. Wenn man sich nun die Flamme als Küvette denkt und die Hohlkathodenlampe als Strahlungsquelle, so hat man den Apparate-Typus des Photometers vor sich: die gemessene Extinktion ist als analytisches Maß der Konzentration der freien Atome in der Flamme - und damit der Konzentration der Metallionen in der Analysenlösung - direkt proportional. Der Monochromator steht dabei auf der Resonanzfrequenz. Für die einzelnen Elemente, besonders für die mit komplexeren Elektronenhüllen gibt es meist mehrere Resonanzfrequenzen, die für die analytische Praxis genutzt werden können. Die stark unterschiedliche Meßempfindlichkeit (über mehrere 10er-Potenzen) bei den einzelnen Spektrallinien hängt von deren Strahlungsinintensität ab: Verwendung der intensiven Hauptlinien erlaubt stets die empfindlichsten Messungen.

Das System muß wie jede spektralphotometrische Methode mit Standardlösungen bekannter Konzentration geeicht werden. Bei der Bestimmung von Elementen, die ihre Valenzelektronen leicht verlieren (wie z.B. K und Ca) muß der Meßlösung, wie auch der Standardlösung, Cäsium als sogenannter "Ionisationspuffer" hinzugefügt werden, damit die "thermische Ionisation" der Atome verhindert wird.

#### *Durchführung:*

Herstellung der Standardlösungen aus 1000 mg/L Stammlösungen (bzw. 100 mg/L Zwischenverdünnungen). In den Standardlösungen lassen sich zur Vereinfachung alle 4 Elemente kombinieren; jeweils 100 mL ansetzen. Die Konzentration an CsCl soll 0.1% betragen. Zu beachten ist, daß die "Matrix" der verwendeten Eichlösungen der "Matrix" der Proben (Wasser, Säuren, Ammoniumacetat) angepaßt werden muß!

mg / L	Standard 1	Standard 2	Standard 3	Standard 4
Magnesium	0.5	1.0	2.0	5.0
Calcium	10.0	5.0	1.0	2.0
Kalium	2.0	5.0	10.0	1.0
Natrium	0.5	1.0	2.0	5.0

Für Na, K und Mg: Acetylen-Luft-Flamme im Mischungsverhältnis 1:3 - oxidierend.

Für Ca: Acetylen-Lachgas-Flamme im Verhältnis 1:2 - leicht reduzierend.

**Vorbereitung der Proben:**

Heißwasserextrakte: In den entsprechenden Plastikgefäßen („Greiner-cups“) werden wässrige Verdünnungen von 1:50 und 1:400 angesetzt, die 0.1% CsCl enthalten. Säure-Extrakte: In den entsprechenden Plastikgefäßen werden die Extrakte 1:100 mit 1N HCl in 0.1% CsCl verdünnt.

**Meßparameter:**

Element (mA)	Linie (nm)	Spaltbreite (nm)	Bereich (mg L <sup>-1</sup> )	Lampe
Na	589.0	0.2	< 5	8
K	766.5	0.7	< 10	12
Mg	285.2	0.7	< 5	6
Ca	422.7	0.7	< 10	15

**HPLC der Zucker mit elektrochemischer Detektion (pulsed amperometric detection, PAD)****1. Probenvorbereitung**

! Um eine Verstopfung des Systems zu vermeiden müssen die Proben schwebstofffrei sein! Zentrifugiere alle Proben bei hoher Geschwindigkeit (20.000g, 10 min) vor der Analyse. Der Überstand muss in frische Probenröhrchen überführt werden !

Zur Analyse gelangen je 1ml verdünnte 4% Heißwasserextrakte (siehe oben). Die Verdünnung der Proben erfolgt mit MilliQ -Wasser , um eine Kohlenhydratkonzentration zwischen 5- 30 mg zu erreichen. Wir beginnen mit einer Verdünnung von 1+50.

Zur Berechnung der Konzentration aus den amperometrischen Signalen werden Testgemische (Standards) benötigt:

Standards: 0,1 | 1 | 10 | 100 mgL<sup>-1</sup> Die Testlösungen werden aus 1000 mgL<sup>-1</sup> Stammlösungen (siehe untere Tabelle) nach folgender Methode hergestellt : 1000mgL<sup>-1</sup>, 100µl + 900 A.d ergibt 100mgL<sup>-1</sup>, davon 100 µL für die nächste Verdünnung verwenden, der Rest (900µL) kommt zur Analyse in ein Proberöhrchen und wird verschlossen.

Die erforderliche Mindestmenge an Probenvolumen beträgt 0,5 mL aber ein Volumen von bis zu 1mL wird empfohlen, falls eine zweite Einspritzung nötig sein sollte. Dies kann auch erforderlich sein, wenn größere Probenschleifen (>25µL) Verwendung finden.

Wenn der Merck L-7200 Probengeber benutzt wird, können auch Standard-Eppendorf-Proberöhrchen („Eppis“) mit 1,5mL Volumen verwendet werden. Der Spark Basic Marathon Probengeber (den wir im Praktikum verwenden) kann aber nur Glassröhrchen mit Crimp-Verschluss (sg. „crimp vials“) aufnehmen.

Die Proben dürfen keine Lösungsmittel (Ethanol o.ä.) enthalten. Diese Lösungsmittel geben amperometrische Signale und interferieren darum mit der Analyse. Solche Proben müssen zuvor komplett getrocknet und so vom Lösungsmittel befreit, dann in MilliQ Wasser aufgenommen werden.

Auch hohe Salzkonzentrationen (Bodenproben!) verfälschen die Signale, indem sie die Retentionszeiten verschieben.

**2. Trennung von Mono- und Oligosacchariden**

Säule: PA100 (250 x 4mm) mit 50mm-Vorsäule  
Elution: 100mM NaOH isocratisch, 1mL/min Flow

Dies ist die Standardmethode für Kohlehydrate. Sie ist auch geeignet für die Analyse von Glukose aus enzymatischer Stärkespaltung (Gesamtanalyse kann auf 8-10 min reduziert werden). Eine ähnlich gute Trennung kann mit PA10 (250x2mm) Säulen, eluiert mit 100mM NaOH bei 0,25mL/min erreicht werden.

Verbindung	Approx. Retentionszeit (min)
Glucose	5.2
Fructose	5.6
Sacharose	9.1
Raffinose	16.0

## Enzymatische Substratbestimmung: Glucose und Saccharose

*Prinzip:* Saccharose wird durch das Enzym  $\beta$ -Fructosidase in Glucose und Fructose zerlegt (Hydrolyse). Zur Glucosebestimmung vor der Saccharose-Hydrolyse wird die freie Glucose mit Hilfe des Enzyms Hexokinase in Gegenwart von ATP (und unter Bildung von ADP) zu Glucose-6-Phosphat (G6P) phosphoryliert. Das so entstandene G6P wird dann durch  $\text{NADP}^+$  durch das Enzym G6P-Dehydrogenase zu Gluconat-6-Phosphat oxidiert, wobei  $\text{NADP}^+$  zu  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  reduziert wird. Die umgesetzte Menge an  $\text{NADP}^+$  ist dabei der Menge an Glucose äquivalent. Der Anstieg der Extinktion wird daher bei 340 nm vermessen. Nach Abschluß dieser Reaktion (also wenn die gesamte Glucose umgesetzt wurde) wird Saccharose durch das Enzym  $\beta$ -Fructosidase zu Glucose und Fructose hydrolysiert (enzymatische Inversion). Danach wird Glucose nach dem obigen Prinzip bestimmt. Aus der Differenz des Glucosegehaltes nach und vor der Inversion wird dann der Saccharosegehalt berechnet.

*Assay:* In Glasküvetten, bei 40°C thermostatiert.

	Glucose-Proben		Saccharose-Proben	
	<i>Probe</i>	<i>Leerwert</i>	<i>Probe</i>	<i>Leerwert</i>
Citrat-Puffer, pH 4.6 / $\beta$ -Fructosidase	_____	_____	0.20 mL	0.20 mL
Probe	0.10 mL	_____	0.10 mL	_____
Aqu. glasdest.	_____	0.10 mL	_____	0.10 mL
Mischen und Probe 15 min bei Raumtemperatur inkubieren.				
Triethanolamin-Puffer, pH 7.6	1.00 mL	1.00 mL	1.00 mL	1.00 mL
(inkl. ATP, NADP, $\text{MgSO}_4$ )				
Aqu. glasdest.	2.00 mL	2.00 mL	1.50 mL	1.50 mL
Mischen und nach 5 min die Extinktion bei 340 nm festhalten.				
Hexokinase / G6P-Dehydrogenase	0.02 mL	0.02 mL	0.02 mL	0.02 mL

Mischen und Extinktionsanstieg bis zur Konstanz verfolgen und Extinktion festhalten.

Die Berechnung erfolgt über den molaren Extinktionskoeffizienten von NADPH: eine Extinktionsdifferenz von 1.000 entspricht  $0.1608 \times 10^{-6}$  mol pro mL. Die Messung einer Saccharose-Standardlösung dient nur zur Überprüfung der Arbeitstechnik.

### Reagenzien:

Citrat-Puffer	50 mM, pH 4.6 (inkl. $\beta$ -Fructosidase 72 U/mL)
Triethanolamin-Puffer	200 mM, pH 7.6, 10 mM $\text{MgSO}_4$ (inkl. 2.4 mg/mL NADP, 5.8 mg/mL ATP)
Enzymsuspension	290 U/mL Hexokinase und 145 U/mL G6P-DH
Saccharose-Standardlösung	500 mg/L A.dest. (unverdünnt einsetzen)



## Ultrarot-Absorptions-Spektrometer URAS (Bodenatmung)

Prinzip: Heterogene Gase (Gase, die aus unterschiedlichen Atomen bestehen) absorbieren infrarote Strahlung, wobei die absorbierte Energie im betroffenen Molekül Schwingungen in allen Raumrichtungen bewirkt. Für die Summe der betroffenen Moleküle bedeutet dies eine Temperaturerhöhung. In einem geschlossenen Gefäß wird dadurch eine Druckzunahme bewirkt (Gasgesetz von Gay-Lussac). Beim URAS (engl. IRGA, infra-red-gas-analyser) werden ein CO<sub>2</sub>- freies Referenzgas und zu messende Gase gleichzeitig einer bestimmten Intensität Infrarotstrahlung ausgesetzt. Je nach Konzentration der Gase wird unterschiedlich viel IR absorbiert. Die nicht absorbierten Rest-IR Strahlungen gelangen in einen Detektor. Dieser besteht aus einer abgeschlossenen, CO<sub>2</sub>- gefüllten Kammer, welche durch eine Membran zweigeteilt ist. Durch diese Konstruktion treten Druckunterschiede auf, welche elektronisch ausgewertet und in ppm CO<sub>2</sub> angezeigt werden. Auf diese Weise wird die CO<sub>2</sub> Entwicklung in Böden als sg. Bodenatmung erfaßt. Diese kann als Maß für die Belebtheit von Böden herangezogen werden, da sie im Verhältnis zur atmenden Biomasse (Anderson & Domsch, 1978) steht. Wird dem Boden ein Substrat zugesetzt (z.B. Glucose), kann die derart zusätzlich stimulierte CO<sub>2</sub>-Freisetzung des Bodens als sg. Substrat stimulierte Bodenatmung, die mit der maximal möglichen Aktivität lebender mikrobieller Biomasse zusammenhängt (Substrat induzierte Respiration- SIR) gemessen werden.

Durchführung: 50 g naturfeuchter, auf 2 mm gesiebter Boden wird im Tiefkühlbeutel (Becherglas) eingewogen, mit 0.2 % FM (0,1 g) Glucose versetzt (separat einwiegen!) und gut gemischt (im Plastiksack durch Aufblasen des Beutels mit anschließendem Schütteln). Dieses Gemisch wird in Küvetten gefüllt, deren untere Öffnung mit einer Schicht Zellstoff bedeckt ist. Wird nur die Bodenatmung bestimmt, unterbleibt die Glucosezugabe. Die Küvetten werden nun bei einer Raumtemperatur von 25°C kontinuierlich mit CO<sub>2</sub>-freier Luft gespült (etwa 6 L / h , "offener Kreislauf") und die CO<sub>2</sub>-Konzentration alle 30 min mit dem URAS gemessen. Zur Auswertung gelangt der jeweils niedrigste (nach etwa 6 h) erreichte Wert.

Berechnung der Ergebnisse: Die Meßwerte werden in mg CO<sub>2</sub> / h / 100 g Boden FM oder TM nach folgender Formel umgerechnet:

$$\begin{array}{l}
 \text{mg/L} / 10^6 * \text{flow} * 10^3 \\
 (\text{c}[\text{ppM}] / 10^6 * \text{flow}[\text{L/h}]) * 10^3 / \text{weight} * 10^3 * 1,96
 \end{array}
 \qquad
 \begin{array}{l}
 \text{mL CO}_2 \text{ in der Probe pro Stunde} \\
 \text{mg CO}_2 / \text{kg Boden}
 \end{array}$$

$$x = \frac{c * f * 1.000 * 1.000}{1.000.000 * w} * 1,96
 \qquad
 x = \frac{f * c}{w} * 1,96$$

x : mL CO<sub>2</sub> /kg FW \* h  
 f : air flow rate ( L / h )  
 c : CO<sub>2</sub> - concentration ( mg/L )  
 w : weight of the soil sample (g)

Es ergibt sich die Möglichkeit , in einem Koordinatensystem auf der X-Achse die Zeit und auf der Y-Achse die CO<sub>2</sub>- Konzentration aufzutragen und die so entstehenden Kurven hinsichtlich ihrer Steigung zu vergleichen.

