

Scientific Report:

1. Introduction:

In February 2012 a measurement campaign was initiated to gain more information about the IN activity of pollen waters, as described in the paper by Pummer et al. (2012). Therefore we analyzed the immersion freezing behavior of well defined monodispers particles generated from pollen washing water at LACIS (Leipzig Aerosol Cloud Interaction Simulator), a setup different from the oil emulsion experiments. The main advantages of LACIS are first the fact that droplets are floating airborne, while they are embedded in paraffin in the oil immersion setup, and second that the setup allows a precise adjustment of the droplet parameters (e.g. a single droplet size containing particles of a given diameter). Measurements with washing water of birch pollen from two different sources were performed. As supplementary measurements we diluted our washing water samples in Vienna and determined the reduction of ice nucleation activity as a function of concentration, respectively IN number. Furthermore, we determined the ice composition frozen oil immersion samples with an XRD setup.

2. Measurements:

2.1. LACIS:

Participants: S. Augustin, T. Clauss, S. Hartmann, D. Niedermeier, B. G. Pummer, F. Stratmann, J. Voigtländer, H. Wex

The Leipzig Aerosol Cloud Interaction Simulator (LACIS) is a laminar flow tube that is used for ice nucleation measurements (Hartmann et al., 2011). Therefore suspensions respectively solutions of the sample of interest are atomized and dried, so that air-suspended particles are formed. By a differential mobility analyzer (DMA) a

certain particle size (100-800 nm) is selected and inserted into the flow tube. In LACIS, first, all particles are activated to liquid droplets of a given size (about 2 μm at the outlet) and second, due to cooling to the temperature of interest, all droplets containing at least one ice nucleus freeze. At the outlet of the laminar flow tube by the means of an optical particle spectrometer the fractions of ice particles and liquid droplets is determined (Clauss et al., 2012). By repeating the measurements at different temperatures, the nucleation spectrum can be analyzed, where the frozen fraction is given as function of temperature. Two parameters are important to compare different samples. First the fraction of droplets that freeze before homogeneous freezing occurs, which depends on the number of ice nuclei. Second the median freezing temperature, which is the temperature where the half height of the heterogeneous freezing step is reached. It mainly depends on the chemical composition of the investigated ice nuclei. Measurements were carried out with pollen washing water of ragweed, hazel, juniper, pine and birch: The latter ones were acquired from two different companies, namely AllergonAB in Sweden (Northern birch) and Pharmallerga in the Czech Republic (Southern birch). The washing water was generated by suspending 5 g pollen per 100 ml MilliQ water for several hours and then filtrating it through a paper filter (type: blackband). Particles generated from the filtrated fraction are then inserted into LACIS.

In LACIS experiments, the amount of pollen washing material contained in an individual droplet and therefore the IN number per droplet is lower compared to the oil immersion setup. As the probability of freezing decreases with lower number of IN immersed in a droplet, the determined ice active fraction is lower than in the oil immersion setup. The influence of the residence time on ice nucleation is of minor importance in this particular case.

Using LACIS, we could see differences between the two birch samples concerning the IN number concentration on pollen due to differences in the active fraction at a given particle size. In the oil immersion setup, the concentration was about three orders of magnitude higher. Thus, the active fraction was always 100%, since every

droplet contained a huge number of ice nuclei (Pummer et al., 2012). The table below shows a list of applied samples, their median freezing temperatures, the initial particle diameters from the DMA, and finally the IN active fraction in the nucleation spectrum:

Snomax*	263 K	800 nm	40%
		650 nm	22%
Southern birch	249 K	800 nm	70%
		650 nm	50%
		500 nm	35%
		300 nm	15%
		150 nm	3%
Northern birch	252 K	800 nm	95%
		650 nm	80%
		500 nm	70%
		300 nm	40%
		200 nm	20%
		100 nm	3%

*) data taken from Hartmann et al. (2012)

In comparison, the active fraction of 300 nm mineral dust particles did not exceed a few percents close to the homogeneous freezing temperature in former studies (Hartmann et al., 2011).

The results obtained in the oil immersion setup differ from those in LACIS, see table below:

Snomax	268 K	100%
Southern birch	255 K	100%
Northern birch	255 K	100%

The reason is that in LACIS experiments not all droplets contain at least a single ice

nucleus, while in the oil immersion setup one droplet contains more than 1000 ice nuclei. The distribution of ice nuclei in the particles generated by the DMA follows Poisson statistics (Hartmann et al., 2012).

2.2. Dilution rows:

Participants: B. G. Pummer

In the oil immersion setup, an emulsion of water in an excess of paraffin-lanolin-oil is prepared to generate an ensemble of microsized water droplets stabilized by an oil matrix. Only water droplets with diameters of 10 to 200 μm are counted. The emulsion is then cooled on a Peltier stage and observed by a microscope in order to generate a nucleation spectrum. Analogously to the preparation in the LACIS setup, we washed the pollen with MilliQ water and then separated the pollen grains from the aqueous fraction. As we could show, the washing water adopts the IN activity of the pollen grains, thus leading to the conclusion that the IN activity of pollen can be derived from suspendable macromolecules on the pollen (Pummer et al., 2012).

The initial concentration of pollen applied for preparation of the washing water in the oil immersion setup was 50 mg/ml. As this concentration is far higher than the IN concentration measurable at LACIS, which was estimated to be in the range of tens of $\mu\text{g}/\text{ml}$, dilution rows of the different pollen samples were prepared and measured. The maximum active fractions are put together in the table below:

Southern Birch	50 mg/ml	100%
	2 mg/ml	100%
	0.1 mg/ml	88%
	5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	65%
	0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$	9%
Juniper	50 mg/ml	100%
	2 mg/ml	50%

	0.1 mg/ml	17%
Pine	50 mg/ml	62%
	2 mg/ml	21%
	0.1 mg/ml	0%

As it can be seen, the results are consistent with the LACIS experiments at a concentration between 0.5 µg/ml and 0.1 mg/ml. This range is consistent with the approximate pollen material concentration in the droplets of the LACIS setup. As a whole, the oil immersion and LACIS experiments can be considered as complementary investigations:

- The LACIS setup allows the generation of precisely defined droplets. As they are air-borne, this setup is closer to atmospheric conditions. Since the IN number concentration per droplet is low, the results can be used for statistical calculations. Furthermore, the nucleation rate of a single IN molecule can be determined.
- The oil immersion method allows to determine the impact of cooling rate or time on the IN behavior. Furthermore, the sample concentration range applicable extends over many orders of magnitude, since it is not limited by the DMA. Finally, the generation of full nucleation spectra is faster.

As the identity of the birch pollen ice nuclei is still unknown, further investigation on this topic will be necessary. We have shown in former studies that birch pollen ice nuclei are macromolecules with a mass of 100-300 kDa. Furthermore, they are resistant towards treatment with different digestion enzymes, guanidinium chloride and temperatures up to 445 K (Pummer et al., 2012).

2.3. XRD:

Participants: H. Grothe, B. G. Pummer, F. Weiss

The typical ice structure that forms under ambient conditions is the hexagonal ice Ih. However, when carrying out XRD measurements, the signal intensities sometimes do not correlate with the pattern of pure ice Ih. Due to that, the existence of a metastable phase, namely the cubic ice Ic, was postulated, which is supposed to form especially when temperatures are very low (see Fig. 1).

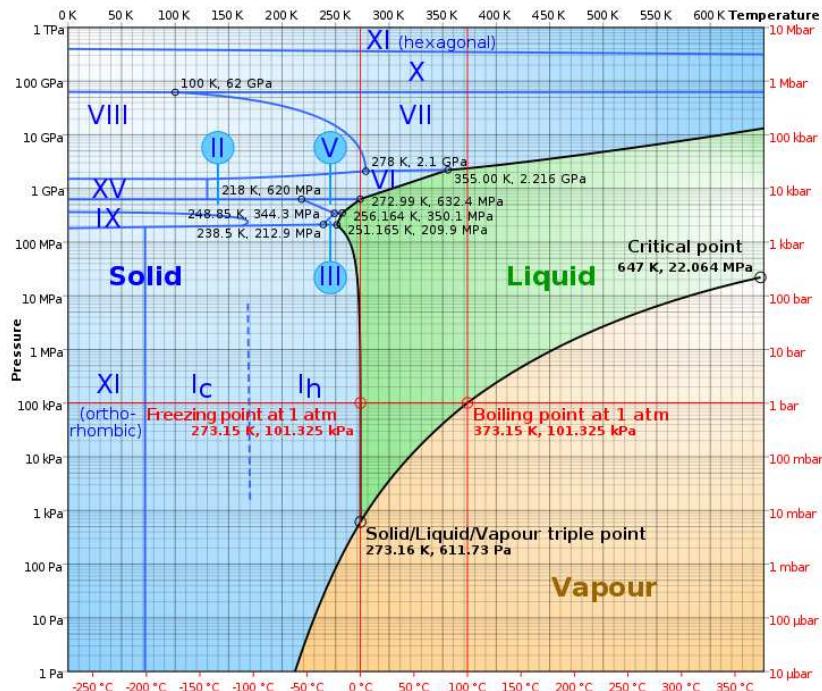


Fig. 1: The phase diagram of water, including ice Ic and ice Ih (<http://en.wikipedia.org/wiki/Ice>)

However, ice Ic has never been isolated as a pure phase, but always in mixture with the thermodynamically stable ice Ih. Recent studies (e.g. Kuhs and Hansen, 2009) suggest that the supposed ice Ic is in fact only stacking faults of ice Ih. This theory is consistent with the behaviour of ice Ic, like the appearance at strong supercooling or the increased vapour pressure. According to this, ice Ic in fact does not exist as an individual phase.

Oil emulsions were generated with a set of samples (Snomax, birch pollen water, juniper pollen water, ragweed pollen water, pure water, organic acid solutions). The droplet diameter in this case was about 5-10 μm . Then the samples were cooled down to 190 K on an Anton Paar Ltd cooling stage (commercially available) in a Siemens powder diffractometer. The composition of the frozen droplets was determined by CuK α X-rays. In the spectra we see signals that can be either assigned only to ice Ih,

or to both ice Ic and ice Ih. The relative increase of the mixed signals, respectively the relative decrease of the purely ice Ih signals, can be interpreted as an increase of the amount of ice Ic.

Although we cannot present quantitative results at the moment, our measurements showed a correlation between the median freezing temperature and the formation of ice Ic, namely that the fraction of ice Ic decreases with increasing ice nucleation temperature. We could not observe an impact of the chemical composition of the ice nuclei on the ration between ice Ic and ice Ih, however, quantitative evaluation, as well as a larger set of samples will be necessary to confirm this statement. Fig. 2 and 3 show two typical XRD spectra:

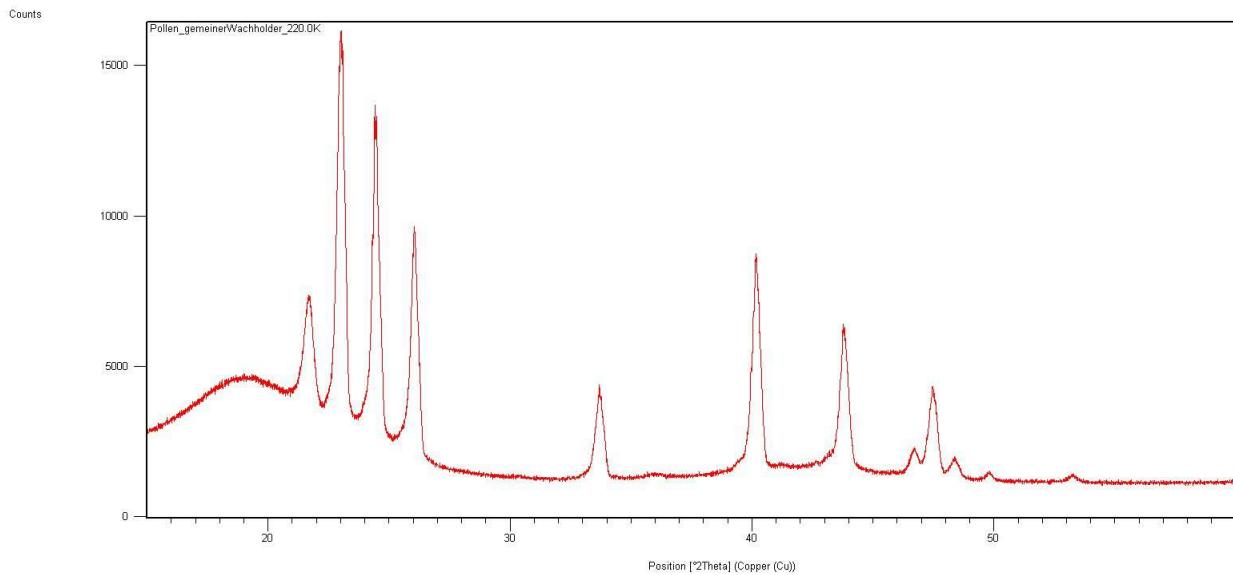


Fig. 2: XRD spectrum of common juniper pollen washing water.

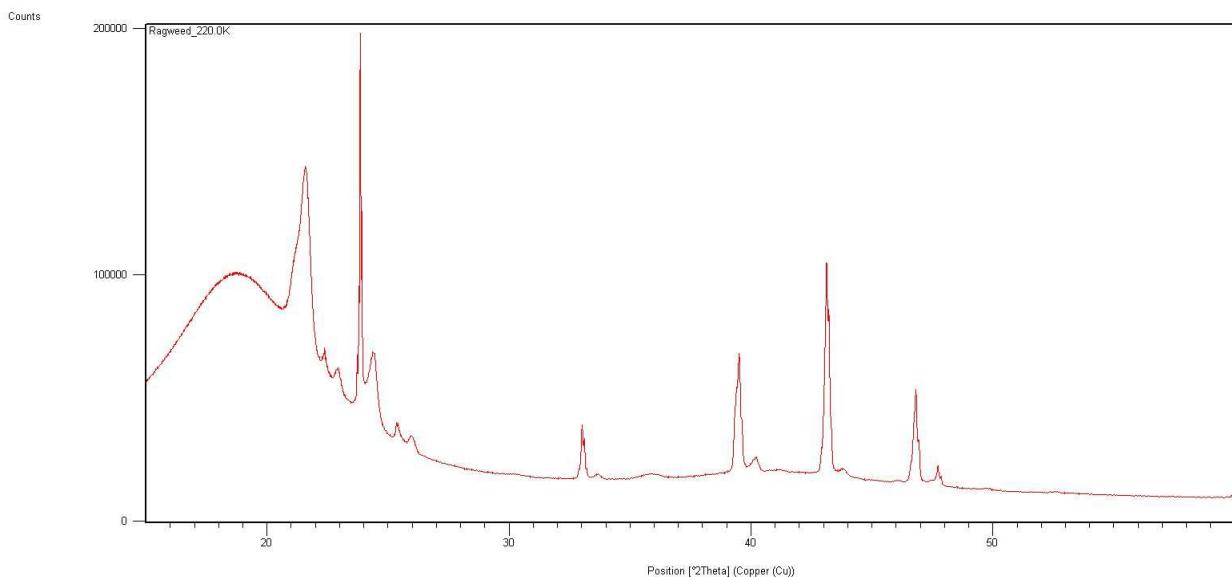


Fig. 3: XRD spectrum of ragweed pollen washing water.

Common juniper pollen are a quite efficient ice nucleus, while ragweed pollen form nearly no ice above homogeneous freezing in the oil immersion setup.

3. Conclusions and Outlook:

We intend to publish our results in a journal of atmospheric sciences, most likely Atmos. Chem. Phys.. The first part is intended to be accessible within this year. Our cooperation with WG Stratmann will be continued, since birch pollen seem to be a suitable reference substance for ice nucleation studies in all types of IN measurement setups. According to our results of the XRD measurements, there is a simple correlation between freezing temperature and ice phase.

References:

Clauss T., Kiselev A., Hartmann S., Augustin S., Pfeifer S., Niedermeier D., Wex H., and Stratmann F.: Linear polarized light for the discrimination of frozen and liquid droplets in ice nucleation experiments, *Atmos. Meas. Tech.* (submitted), 2012.

Hartmann S., Niedermeier D., Voigtländer J., Clauß T., Shaw R.A., Wex H., Kiselev A., and Stratmann F.: Homogeneous and heterogeneous ice nucleation at LACIS: operating principle and theoretical studies, *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 1753-1767, 2011.

Hartmann S., Augustin S., Clauss T., Voigtländer J., Niedermeier D., Wex H., and Stratmann F.: Immersion freezing of ice nucleating active protein complexes, *Atmos. Chem. Phys. Discuss.*, 12 (submitted), 2012.

Kuhs W.F. and Hansen T.C.: The defective nature of ice Ic and its implications for atmospheric science, *Geophys. Res. Abstracts*, 11, EGU2009-3607-1, 2009.

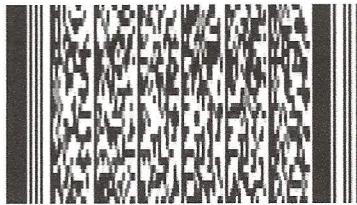
Pummer B.G., Bauer H., Bernardi J., Bleicher S., and Grothe H.: Suspendable macromolecules are responsible for ice nucleation activity of birch and conifer pollen, *Atmos. Chem. Phys.*, 12, 2541-2550, 2012.



C1357/IMI

XBAK 2PCS

paid



M

Boarding Pass

Name	PUMMER / BERNHARD MR		
Flug	OS215 / 30.Jul	durchgeführt von TYROLEAN AIRWAYS	
Abfluggate	Wien - Leipzig/Halle		
Boardingzeit	F05	Boarding Nummer	015
Abflugzeit	05:40	Fluggesellschaft	AUSTRIAN
Sitznummer	06:25	etix	220 2320416639
Klasse	Economy	Passagier Status	
Gepäckannahme	CHECK-IN AREA 3		

Allgemeine Informationen

- Dieses Dokument ist Ihre Bordkarte, die Sie für den Zutritt in den Gatebereich und zum Einsteigen benötigen.
- Bitte führen Sie zusätzlich zu diesem Ausdruck Ihren Lichtbildausweis zur Identitätskontrolle während der Reise mit.
- Wenn Sie mit Gepäck reisen, geben Sie dieses bitte frühzeitig, bis spätestens 45 Minuten vor Abflug an den oben unter "Gepäckannahme" angegebenen Lufthansa Gepäckannahmeschaltern auf.
- Bitte seien Sie zur angegebenen Boardingzeit am Abfluggate, da Ihr Sitzplatz andernfalls erneut vergeben werden kann.

*Bitte beachten Sie mögliche Gate-Wechsel.

Wichtiger Hinweis:

Eine Reise mit diesem Flugschein kann dem Montrealer Übereinkommen oder dem Warschauer Abkommen unterliegen, die die Haftung des Luftfrachtführers für Verlust oder Beschädigung von Gepäck und für Verspätungen beschränken. Für Tod oder Körperverletzung gelten nach dem Montrealer Übereinkommen und für die Luftfahrtunternehmen der Europäischen Gemeinschaft keine Haftungsgrenzen und entfällt für Schäden bis zu einem 113.100 SZR entsprechenden Betrag der Einwand fehlenden Verschuldens.

Beförderung mit der Deutschen Lufthansa AG unterliegt deren Beförderungs-, Tarif- und sonstigen Bedingungen.

Gefährliche Gegenstände im Passagiergepäck

Aus Sicherheitsgründen darf das Reisegepäck folgende Artikel oder Stoffe nicht enthalten:

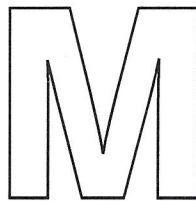
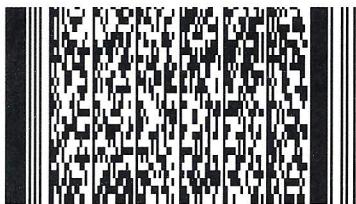
Explosivstoffe, Munition, Feuerwerke und Leuchttrakturen Gase (entzündliche, nicht entzündliche, tiefgekühlte und giftige), wie z.B. Camping Gas und Aerosol, Kohlendioxid-Kartuschen, Entflammbar flüssige Stoffe wie Feuerzeugfüllungen, Farben und Verdünner, Entflammbar feste Stoffe (wie Streichhölzer) und andere leicht entflammbar Materialien. Stoffe, die zur Selbstentzündung neigen, Stoffe, welche in Berührung mit Wasser brennbare Gase entwickeln, Oxydierende Stoffe wie Bleichpulver und Peroxyde, Giftige (toxische) Stoffe und Krankheitserreger, Radioaktive Materialien, Ätzendes wie Quecksilber, was in Thermometern enthalten sein kann, Säuren, Alkali und Batterien, nass, gefüllt mit Batterieflüssigkeit, Magnetisierende Stoffe und verschiedene gefährliche Güter, welche in den IATA Gefahrgut-Vorschriften aufgeführt sind Streichhölzer und Gasfeuerzeuge dürfen nur am Körper mitgeführt werden.





Lufthansa

A STAR ALLIANCE MEMBER



Boarding Pass

Name	PUMMER / BERNHARD MR		
Flug	OS214 / 01.Aug	durchgeführt von	TYROLEAN AIRWAYS
	Leipzig/Halle - Wien		
Abfluggate	001		
Boardingzeit	19:10	Boarding Nummer	003
Abflugzeit	19:30	Fluggesellschaft	AUSTRIAN
Sitznummer	9D	etix	220 2320416639
Klasse	Economy	Passagier Status	
Gepäckannahme	Central Terminal, Counter no. 4-5	Gepäck	

Allgemeine Informationen

1. Dieses Dokument ist Ihre Bordkarte, die Sie für den Zutritt in den Gatebereich und zum Einsteigen benötigen.
2. Bitte führen Sie zusätzlich zu diesem Ausdruck Ihren Lichtbildausweis zur Identitätskontrolle während der Reise mit.
3. Wenn Sie mit Gepäck reisen, geben Sie dieses bitte frühzeitig, bis spätestens 30 Minuten vor Abflug an den oben unter "Gepäckannahme" angegebenen Lufthansa Gepäckannahmeschaltern auf.
4. Bitte seien Sie zur angegebenen Boardingzeit am Abfluggate, da Ihr Sitzplatz andernfalls erneut vergeben werden kann.

*Bitte beachten Sie mögliche Gate-Wechsel.

Wichtiger Hinweis:

Eine Reise mit diesem Flugschein kann dem Montrealer Übereinkommen oder dem Warschauer Abkommen unterliegen, die die Haftung des Luftfrachtführers für Verlust oder Beschädigung von Gepäck und für Verspätungen beschränken. Für Tod oder Körperverletzung gelten nach dem Montrealer Übereinkommen und für die Luftfahrtunternehmen der Europäischen Gemeinschaft keine Haftungsgrenzen und entfällt für Schäden bis zu einem 113.100 SZR entsprechenden Betrag der Einwand fehlenden Verschuldens.

Beförderung mit der Deutschen Lufthansa AG unterliegt deren Beförderungs-, Tarif- und sonstigen Bedingungen.

Gefährliche Gegenstände im Passagiergepäck

Aus Sicherheitsgründen darf das Reisegepäck folgende Artikel oder Stoffe nicht enthalten:

Explosivstoffe, Munition, Feuerwerke und Leuchtraketen Gase (entzündliche, nicht entzündliche, tiefgekühlte und giftige), wie z.B. Camping Gas und Aerosol, Kohlendioxid-Kartuschen, Entflammbar flüssige Stoffe wie Feuerzeugfüllungen, Farben und Verdünner, Entflammbar feste Stoffe (wie Streichholzer) und andere leicht entflammbar Materialien. Stoffe, die zur Selbstentzündung neigen, Stoffe, welche in Berührung mit Wasser brennbare Gase entwickeln, Oxydierende Stoffe wie Bleichpulver und Peroxyde, Giftige (toxische) Stoffe und Krankheitserreger, Radioaktive Materialien, Ätzendes wie Quecksilber, was in Thermometern enthalten sein kann, Säuren, Alkali und Batterien, nass, gefüllt mit Batterieflüssigkeit, Magnetisierende Stoffe und verschiedene gefährliche Güter, welche in den IATA Gefahrgut-Vorschriften aufgeführt sind Streichholzer und Gasfeuerzeuge dürfen nur am Körper mitgeführt werden.





Nonstop you.

Lufthansa**Buchungscode:**
6W6DW9

Flugscheindetails & Reiseinformationen

Reisedaten für: PUMMER / BERNHARD MR
Ticketnummer: [220-2320416639](#) *
etix® Identifikation: XXXXXXXXXXXXXXX0600

* Den **Passenger Receipt** (Rechnungsbeleg) erhalten Sie durch einen Klick auf die Flugscheinnummer bis 30 Tage nach Reisebeginn.

Ihre Flugdaten

Flug	Datum	Von	Nach	Abflug	Ankunft	Buchung
LH 6381 durchgeführt von: TYROLEAN AIRWAYS FOR AUSTRIAN	30. Juli	VIENNA AT VIENNA INTL	LEIPZIG/HALLE DE	06:25 Uhr	07:35 Uhr	Economy Class (W) bestätigt
LH 6378 durchgeführt von: TYROLEAN AIRWAYS FOR AUSTRIAN	01. August	LEIPZIG/HALLE DE	VIENNA AT VIENNA INTL	19:30 Uhr	20:45 Uhr	Economy Class (W) bestätigt

Gesamtpreis Ihres Tickets

Preis	Steuern & Gebühren	Passagiere	Total
205.00	+ 141.95	x 1 Erwachsener = EUR	346.95
		Ticket Service Charge = EUR	15.00
		Gesamtpreis für alle Reisenden = EUR	361.95

Informationen für Ihren Flug

■ Für Sie wurde ein elektronisches Ticket erstellt. Ihre Bordkarte erhalten Sie schnell und bequem ab 23 Std. vor Abflug über den Online Check-in unter www.lufthansa.com. Halten Sie zur Identifikation Ihren Buchungscode, Ihre Miles&More-Karte oder die Kreditkarte bereit, die Sie zur Buchung genutzt haben. Alternativ können Sie Ihre Bordkarte auch am Flughafen an einem Check-in Automaten erhalten. Sollten Sie mit einer anderen Fluggesellschaft reisen als Lufthansa, informieren Sie sich bitte bei dieser nach den Check-in Konditionen.

- Bitte informieren Sie sich rechtzeitig vor Ihrem Reiseantritt über die aktuellen, in dem Flugpreis Ihres Flugscheins enthaltenen [Freigepäckmengen](#) und die geltenden [Handgepäckbestimmungen](#).
- Für Lufthansa Flüge ist keine Rückbestätigung nach Ticketkauf notwendig.
- Bitte informieren Sie sich über die für Sie anwendbaren Gesundheits- und Einreisebedingungen.

Buchungscode: 6W6DW9

■ Da es sich bei dem von Ihnen gewählten Flugpreis um einen Sondertarif handeln kann, beachten Sie bitte, dass Umbuchungen und Stornierungen nur eingeschränkt möglich sein können. Sollten Umbuchungen und Erstattungen möglich sein, können hierfür entsprechende Entgelte anfallen. Bei Umbuchungen sind für die neuen Reisedaten gegebenenfalls Vorausbuchungsfristen, Mindest- und Maximalaufenthalte und Tageszeitrestriktionen einzuhalten. Ihre Fragen über die speziell für Ihren gewählten Flugpreis geltenden Tarifbestimmungen beantwortet Ihnen gerne Ihr [Lufthansa Ansprechpartner](#).

■ Ihre Reiseplanung hat sich geändert? Umbuchungen sind unter bestimmten Voraussetzungen online möglich - weitere Informationen finden Sie [hier](#). Um Ihre Umbuchung vorzunehmen, klicken Sie bitte auf Ihren Buchungscode (oben links in dieser Buchungsbestätigung) oder gehen zu [Meine Buchungen](#) und geben dort Ihren Buchungscode sowie Ihren Namen ein.

Services rund um Ihren Flug

■ Immer aktuell informiert

Mit unserem E-Mail Newsletter verpassen Sie ab sofort kein Angebot mehr. Gleich [hier](#) anmelden!

■ Sammeln Sie bereits bei Miles & More Meilen auf Ihren Flügen?

Verschenken Sie keine einzige Meile mehr und melden Sie sich am besten gleich [online](#) bei Miles & More zum Meilen sammeln an.

■ Das Organisieren Ihrer Online Buchung wird noch einfacher!

Sie erhalten zusammen mit Ihrer Reiseinformation Kalenderdaten in Form von iCalender Dateien. Diese können Sie nutzen, um die Reisedetails automatisch in Ihren elektronischen Kalender zu übernehmen. Hinweise zu dem Umgang hiermit finden Sie [hier](#).

Wichtiger Hinweis!
Bitte achten Sie darauf, dass die Daten bei der Übernahme in Ihren Kalender aufgrund der persönlichen PC Einstellungen abweichen können und beim Import ggf. manuell zu korrigieren sind!

■ Lufthansa auf Ihrem Mobiltelefon

Geben Sie einfach [lufthansa.com](#) in den Browser Ihres internetfähigen Mobiltelefons ein. Dort können Sie sich eine für das Betriebssystem Ihres mobilen Endgerätes optimierte App kostenlos herunterladen. Sollte keine App speziell für Ihr mobiles Gerät verfügbar sein, haben Sie dennoch über das mobile Portal jederzeit Zugriff auf wichtige Services wie z.B. Online Check-in, Flugplan, Flugstatus sowie die Möglichkeit Ihre Flüge zu buchen.

Ausführliche Informationen finden Sie [hier](#) (Zugriff mit einem PC oder Laptop).

→ [Meine Buchungen](#)

→ [Online Check – in](#)

→ [Stornierung](#)

→ [Lounge Suche](#)

→ [Hilfe & Kontakt](#)

Buchungscode:
6W6DW9

Angebote unserer Partner



Ihr HRS HOTEL jetzt online buchen!

Wohin Sie auch fliegen, bei HRS finden Sie immer das passende (Miles&More-) Hotel an Ihrem Zielort. Wählen Sie jetzt aus 250.000 bewerteten Hotels!

→ [Buchen Sie hier Ihr Hotel](#)



Avis - We Try Harder

Erleben Sie unseren Spirit hautnah - an 5.100 Stationen in mehr als 170 Ländern! Erfahren Sie unseren exzellenten Service zu attraktiven Preisen. Wir heißen Sie herzlich willkommen - weltweit bei Avis.

→ [Buchen Sie hier Ihren Mietwagen](#)



Sixt Sonderkonditionen für Lufthansa Passagiere

Mietwagen weltweit ab € 21/Tag inklusive 500 Miles & More Prämienmeilen.

→ [Buchen Sie hier Ihren Mietwagen](#)

Wir danken Ihnen für Ihre Buchung und wünschen Ihnen eine gute Reise.
Mit freundlichen Grüßen

Deutsche Lufthansa AG

Die Beförderung unterliegt den Beförderungsbedingungen für Fluggäste und Gepäck der Lufthansa. Die Deutsche Lufthansa haftet nicht für von Ihnen oder Dritten vorgenommene Veränderungen der übermittelten Daten. Alle Angaben ohne Gewähr.
Bei den angegebenen Zeiten handelt es sich um Ortszeiten.