

Übung Labormethoden

Protokoll zum Teil

Sauerstoffbestimmung

Vereinfachtes Übungsprotokoll zu Demonstrationszwecken

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	2
1.1 GASOMETRISCHE METHODE	2
2. MATERIAL UND METHODEN	3
2.1 GERÄTE, MATERIAL UND CHEMIKALIEN	3
2.2 DURCHFÜHRUNG	3
3. ERGEBNISSE	4
4. DISKUSSION	5
5. LITERATUR	5

1. Einleitung

Die Mehrheit der bekannten heterotrophen Organismen benötigt Sauerstoff für ihre Atmung. Dieser wird zur Verbrennung von Nährstoffen verwendet, im einfachsten Beispiel Zucker ($C_6H_{12}O_6$). Als Endprodukte werden in diesem Fall Wasser (H_2O) und Kohlendioxid (CO_2) abgegeben, CO_2 wird wiederum von Pflanzen und anderen Autotrophen für die Photosynthese benötigt.

Der Sauerstoffgehalt von Gasen und Flüssigkeiten ist ein wichtiger Faktor für die meisten Stoffwechselfvorgänge, und eine aussagekräftige Informationsquelle zu Stoffwechsel- und Produktionsraten.

Im Rahmen des Praktikums wurden 3 gängige Methoden zur Sauerstoffmessung vorgestellt und den Studierenden in praktischen Versuchen näher gebracht, von denen die volumetrische Methode hier dargestellt werden soll:

1.1 Volumetrische Methode zur Sauerstoffverbrauchsmessung an Tieren

Bei der volumetrischen (oder gasometrischen) Atmungsmessung wird der Umstand genutzt, dass sich bei Atmung der Partialdruck von Sauerstoff ändern muss.

In einem geschlossenen System kann darüber hinaus die Änderung des Gesamtluftdrucks mit dem p_{O_2} gleichgesetzt werden, wenn das freigesetzte CO_2 aus der Luft gebunden wird.

In Übung 10.3 ("Volumetrische Sauerstoffverbrauchsmessung an Tieren") wurde mit Hilfe eines Scholander Respirometers die Luftdruckänderung beobachtet, und der Respiratorische Quotient (Verhältnis von aufgenommenem O_2 zu abgegebenem CO_2) berechnet.

Die Messung erfolgte mit Hilfe eines Bolzens mit bekanntem Durchmesser, der in regelmäßigen Abständen zum Druckausgleich in das Manometer nachgeschoben wird. Aus dem Volumen des Bolzens (Länge mal Querschnittsfläche) konnte das verbrauchte Sauerstoffvolumen unter Standardbedingungen errechnet werden.

Als Versuchsobjekte dienten Mehlwürmer (Larven von *Tenebrio molitor*, Abb. 2).



Abb. 1: Mehlwurm (Larve von *Tenebrio molitor*), Länge: ca. 1,5 cm.

2. Material und Methoden

2.1 Geräte, Material und Chemikalien

- Wasserbad (30°C)
- 2 Scholander Respirometer
- Manometer
- Natronlauge (NaOH 10% (w/v))
- Mehlwürmer

2.2 Durchführung

Durchführung laut Skriptum, Seite 81:

Die Scholander-Respirometer (Abb. 2) sind in einem thermostatisierten Wasserbad (30°C) zu äquilibrieren. Anschließend wird bei geschlossenem, leerem Respirometer dessen Dichtigkeit bzw. die Temperaturkonstanz überprüft (keine Veränderung des Manometers).

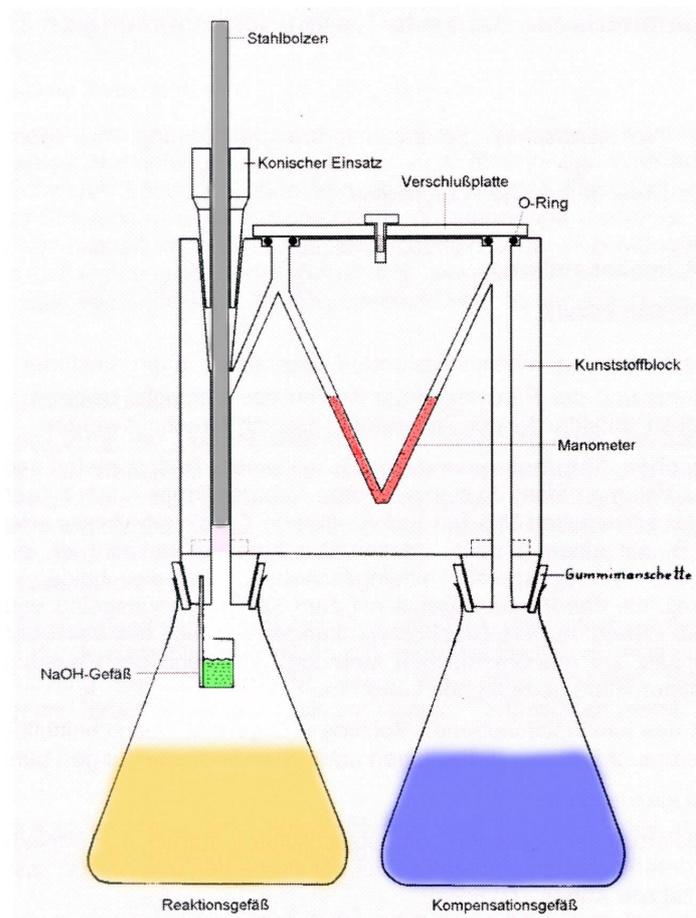


Abb. 2: Schema eines Scholander Respirometers. Die Versuchstiere befinden sich zusammen mit einem NaOH-Behälter (grün) im Reaktionsgefäß (gelb), das über das Manometer (rot) mit dem Kompensationsgefäß (blau) verbunden ist. Das Manometer zeigt Druckunterschiede durch die verschobene Kontrollflüssigkeit. Der Metallbolzen (grau) dient zum Druckausgleich.

In zwei Respirometer, einmal mit und einmal ohne NaOH werden Mehlwürmer gesetzt. Nach etwa 5 Minuten werden die Respirometer geschlossen und die Länge des möglichst weit herausgezogenen Bolzens mit einem Lineal abgemessen.

In regelmäßigen Zeitabständen (die vom Sauerstoffverbrauch der Versuchstiere abhängen) wird durch Einschieben des Bolzens wieder ein Gleichstand der beiden Manometerschenkel erreicht und die Länge des Bolzens wieder gemessen. Die Messung am Respirometer mit NaOH wird nur jedes zweite Mal durchgeführt.

Nach Beendigung der Atmungsmessungen werden die Versuchstiere abgewogen.

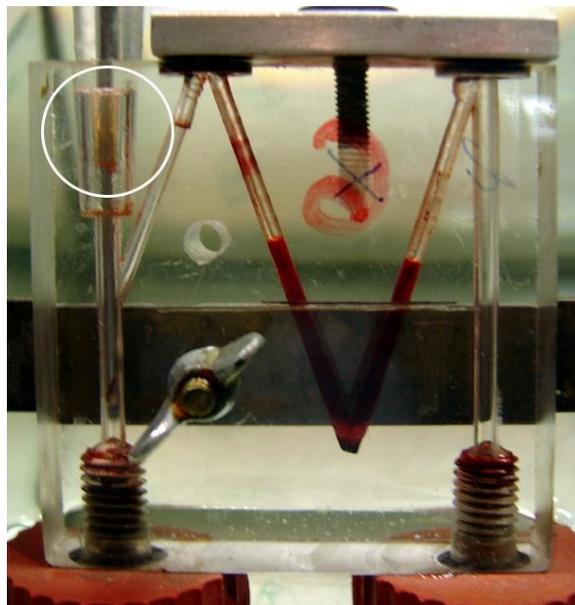


Abb. 3: Manometer. O₂ wird von den Mehlwürmern aufgenommen und veratmet. Das entstehende CO₂ wird vom NaOH im Gefäß gebunden, der resultierende Unterdruck ist über die rote Kontrollflüssigkeit (Verschiebung nach rechts) ersichtlich. Der Kreis markiert die Stelle des manuellen Druckausgleichs mittels Metallbolzen.

3. Ergebnisse

Für den Druckausgleich wurde in 1-Minuten-Abständen ein Metallbolzen mit 1,6 mm Durchmesser nachgeschoben.

Tab. 1 zeigt den Verlauf des Experiments:

Minuten	Restlänge Metallbolzen (mm)	Veratmetes O ₂ (mm ³ O ₂)
0	61	0
1	55	12,06
2	50	10,05
3	45	10,05
4	39	12,06
5	35	8,04

Tab. 1: Druckausgleich mittels Metallbolzen, und daraus errechnetes Volumen von veratmetem O₂.

Das durchschnittlich veratmete O₂-Volumen beträgt demnach für 1,25 g Mehlwürmer 10,05 mm³ O₂ · min⁻¹.

Umrechnung auf Standard-Bedingungen (Masse: 1 g, Luftdruck: 101,325 kPa, Temperatur: 0 °C, Zeitspanne: 1 h): 18,437 μmol O₂ · h⁻¹ · g⁻¹ (Frischmasse)

Der Respiratorische Quotient lässt sich mithilfe von Formel 10.9 (Skriptum) berechnen:

$$RQ = (\Delta V_1 - \Delta V_2) / \Delta V_1$$

ΔV₂ (=Volumsänderung im Respirometer ohne NaOH) beträgt 0, folglich ergibt der RQ den Wert 1.

4. Diskussion

Der Respirative Quotient (RQ) gibt unter anderem Aufschluss über die Nahrungsquelle (bzw. die Stoffe, die verbrannt werden). Durch das unterschiedliche Verhältnis von aufgenommenem O₂ zu abgegebenem CO₂ liegt der RQ bei Fetten im Bereich von 0,7 – das heißt, es wird weniger O₂ verbraucht, als CO₂ abgegeben wird. Bei Stärke liegt der RQ bei ca. 1, bei organischen Säuren deutlich über 1.

5. Literatur und Abbildungen

PÜMPEL, T. (2006): Skriptum zur Übung Labormethoden, Leopold-Franzens-Universität Innsbruck, 5. überarbeitete Auflage

Abb. 1: verändert, aus dem Skriptum zur Übung Labormethoden, S. 80, Abb. 10.2

Abb. 2 und 3: Markus Nolf