

# Protokoll

## Atmung, Gasaustausch und Säure–Base–Haushalt

Till Biskup

Matrikelnummer: 155567

03. März 2000

Atmung, Gasaustausch und Säure–Base–Haushalt sind unterschiedliche Aspekte des Stoffwechsels, die sehr wohl miteinander zusammenhängen. Im vorliegenden Versuch wurde insbesondere auf die besonderen Gegebenheiten der Atmung bei Insekten eingegangen, begonnen mit der diskontinuierlichen  $\text{CO}_2$ –Abgabe über die Respirometrie bis zur Untersuchung des  $\text{CO}_2$ –Kapazitätskoeffizienten der Hämolymphe.

### Aufgaben

#### Diskontinuierliche Kohlendioxidabgabe bei Insekten

1. Tragen Sie den für verschiedene Temperaturen ermittelten mittleren Kohlendioxidflux während der gesamten Versuchsdauer,  $\dot{M}_{\text{CO}_2}$  in  $(\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1})$  in einem halblogarithmischen Diagramm gegen die Temperatur auf.
2. Ermitteln Sie aus den Werten für  $\dot{M}_{\text{CO}_2}$  den  $Q_{10}$  und vergleichen Sie diesen mit den Ergebnissen aus dem Respirometrie–Versuch.
3. Tragen Sie die Burstfrequenz  $f$  in  $(\text{min}^{-1})$  in einem halblogarithmischen Diagramm gegen die Temperatur auf.

#### Respirometrie bei Insekten

1. Berechnen Sie aus den Meßwerten für  $\Delta M_{\text{Abs}}$  und  $\Delta M_{\text{NAbs}}$ , dem Gewicht der Versuchstiere sowie Ihren eigenen Kalibrierdaten die gewichtsspezifischen Werte für  $\dot{M}_{\text{O}_2}$  und  $\dot{M}_{\text{CO}_2}$  ( $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ).
2. Berechnen Sie den RQ für jedes der Versuchstiere.
3. Vergleichen Sie die erhaltenen Werte der  $\text{CO}_2$ –Abgaberaten mit der URAS–Messung.

#### Säure–Base–Haushalt

1. Tragen Sie die  $\text{CO}_2$ –Konzentration des Puffers und der Salzlösung gegen den  $P_{\text{CO}_2}$  auf. Berechnen Sie den Kapazitätskoeffizienten  $\beta = \frac{\Delta[\text{CO}_2]}{\Delta P_{\text{CO}_2}}$ .
2. Erstellen Sie ein  $\text{pH}$ – $P_{\text{CO}_2}$ –Diagramm für Puffer und Salzlösung.

## 1 Diskontinuierliche Kohlendioxidabgabe bei Insekten

### 1.1 Mittlerer Kohlendioxidflux $\dot{M}_{\text{CO}_2}$

Mit Hilfe des URAS (*ultra red absorption spectrometer*) wurden für  $\dot{M}_{\text{CO}_2}$  die in der Tabelle dargestellten Werte für  $T = 15^\circ\text{C}$  und  $T = 20^\circ\text{C}$  ermittelt und aus diesen der Mittelwert  $\dot{M}_{\text{CO}_2}$  errechnet. Die Abhängigkeit des mittleren Kohlendioxidfluxes von der Temperatur ist der halblogarithmischen Darstellung (Abb. 1) zu entnehmen.

$\dot{M}_{CO_2}/\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$							
$T/^\circ\text{C}$	$\dot{M}_{CO_2}/\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$						$\dot{M}_{CO_2}$
15	21.77	28.05	28.78	21.85	25.70	25.51	$25.277 \pm 1.2$
20	40.72	41.11	36.72	33.79	37.17	27.47	$37.017 \pm 1.9$

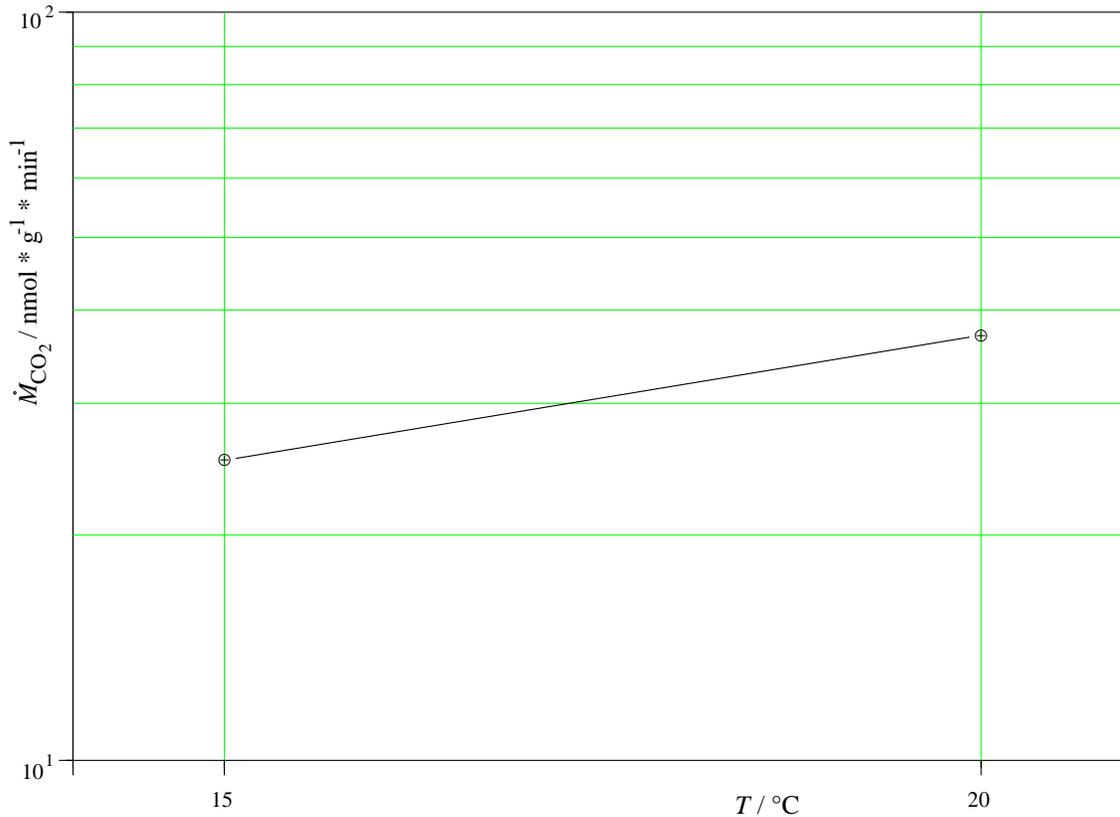


Abbildung 1: CO<sub>2</sub>-Flux

## 1.2 $Q_{10}$ -Wert

Aus dem im ersten Teilversuch bestimmten mittleren Kohlendioxidflux  $\dot{M}_{CO_2}$  läßt sich nach Gleichung (1) der  $Q_{10}$ -Wert berechnen.

$$Q_{10} = \frac{\dot{M}_{CO_2}(T + 10^\circ\text{C})}{\dot{M}_{CO_2}(T)} \quad (1)$$

Unter Annahme strikter Linearität des  $Q_{10}$ -Wertes in seiner Abhängigkeit von der Temperatur  $T$  kann aus den Mittelwerten des vorausgegangenen Teilversuches für  $\dot{M}_{CO_2}$  durch lineare Regression ein hypothetischer Wert  $\dot{M}_{CO_2}(T + 10^\circ\text{C}) = (44.78 \pm 0.08)$  ermittelt werden. Allerdings ist der Fehler der Werte von  $\dot{M}_{CO_2}$  so hoch (vgl. Tabelle), daß eine Angabe dieser Genauigkeit eigentlich nicht gerechtfertigt ist. Als Ergebnis erhalten wir aus diesem Wert mit grober Fehlerabschätzung:

$$Q_{10} = 1.77 \pm 0.17$$

## 1.3 Burstfrequenz $f$

Durch Auszählen der Bursts auf dem von URAS erstellten Graphen bei  $\dot{M}_{CO_2} = 100\text{nmol} \cdot \text{min}^{-1}$  und anschließendes Dividieren durch die Zeit  $t = 60\text{min}$  wurde die Burstfrequenz  $f$

errechnet. Auch sie ist, wie schon der CO<sub>2</sub>-Flux, in einem halblogarithmischen Diagramm gegen die Temperatur aufgetragen.

Burstfrequenz			
$T/^\circ\text{C}$	Bursts	$t/\text{min}$	$f/\text{min}^{-1}$
15	15	60	0.25
20	32	60	0.53

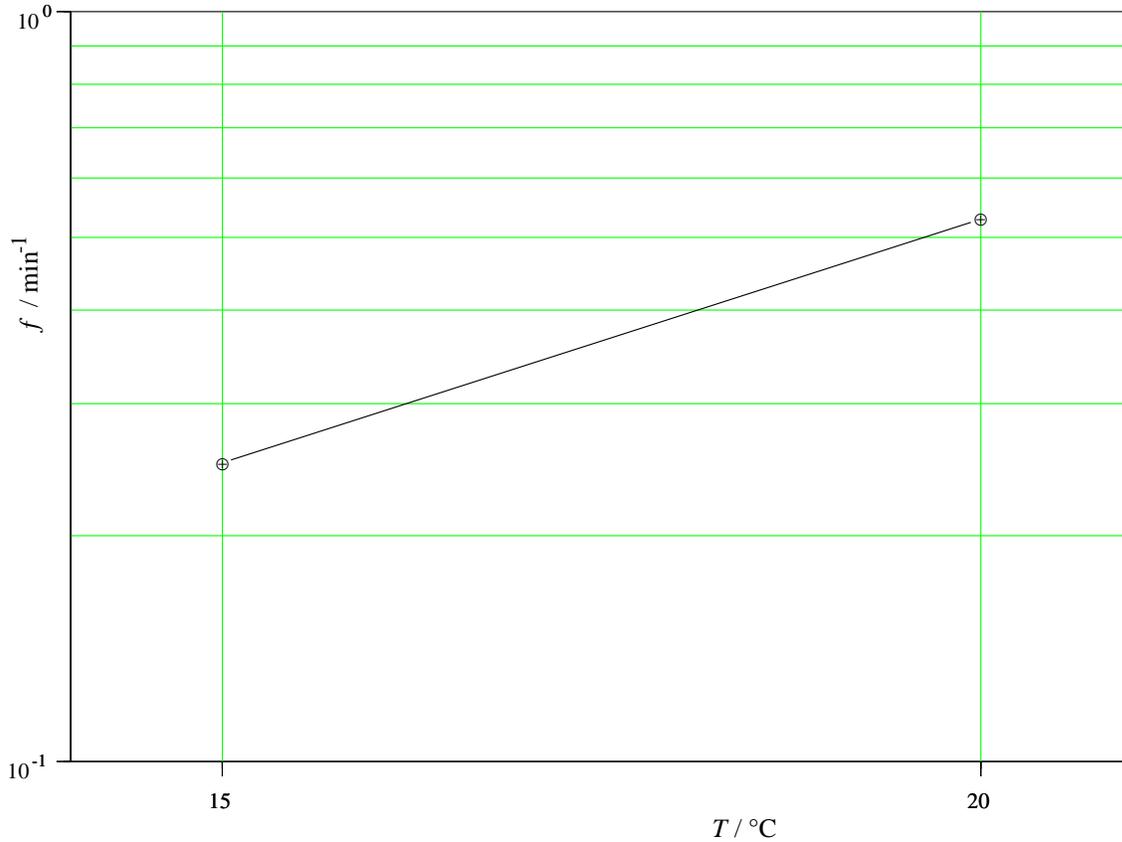


Abbildung 2: Burst-Frequenz

## 1.4 Diskussion

Ein  $Q_{10}$ -Wert läßt sich nicht nur für den Stoffwechsel anhand des CO<sub>2</sub>-Fluxes bestimmen, sondern auch z. B. mittels Burstfrequenz  $f$  oder Bursthöhe  $h_B$  für die Bursts, wie folgende Gleichung demonstriert:

$$Q_{10} = \frac{\dot{M}_{\text{CO}_2}(T + 10^\circ\text{C})}{\dot{M}_{\text{CO}_2}(T)} = \frac{f(T + 10^\circ\text{C})}{f(T)} = \frac{h_B(T + 10^\circ\text{C})}{h_B(T)} \quad (2)$$

Bursthöhe	
$T/^\circ\text{C}$	$h_b$
15	161 ± 11
20	171 ± 9

$Q_{10}$ -Wert	
Methode	Wert
$\dot{M}_{\text{CO}_2}$	1.77 ± 0.17
$f$	3.24
$h_b$	1.12 ± 0.28

Auf eine Ermittlung des  $Q_{10}$ -Wertes über Integration der Bursts im Diagramm wurde mangels Praktikabilität verzichtet. Die Werte für die Bursthöhe sind nur als grobe Richtwerte anzusehen, da sie nicht genau vermessen, sondern nur ungefähr abgelesen wurden. Der Fehler durch mangelnde Ablesegenauigkeit dürfte aber innerhalb des Schwankungsbereiches des Mittelwertes liegen.

Trotz dieser Ungenauigkeiten wird deutlich, daß der  $\text{CO}_2$ -Ausstoß während der Bursts wesentlich höher ist. Das hängt mit der Speicherung des Kohlendioxids während der “constriction”- und “fluttering”-Periode zusammen. Die Stigmen werden nur kurzzeitig während der “opening”-Periode geöffnet. Während dieser kurzen Phase findet der gesamte Gasaustausch mit der UUmgebung statt. Das wird dadurch ermöglicht, daß die Diffusion in der Gasphase gegenüber der in wässrigen Medien um ein vielfaches höher ist.

## 2 Respirometrie bei Insekten

### 2.1 Massespezifische Werte für $\dot{M}_{\text{O}_2}$ und $\dot{M}_{\text{CO}_2}$

Die massespezifischen Werte für die Sauerstoffaufnahme- und Kohlendioxidabgaberate  $\dot{M}_{\text{O}_2}$  und  $\dot{M}_{\text{CO}_2}$  können über den Zusammenhang nach Gleichung (3) über die Stoffänderungsraten  $\Delta M$  im Respirometer bestimmt werden. Diese Stoffänderungsraten ergeben sich ihrerseits gemäß Gleichung (4) aus dem Spannungsabfall des Differenzdrucksensors  $\Delta U$ , dem Kalibrierwert des Spannungsabfalls  $\Delta U(1 \text{ ml})$ , der durch Vergrößerung des Volumens der Respirometerkammer um genau ein Milliliter hervorgerufen wird, dem Volumen  $V(298.15\text{K})$  des Gases bei Raumtemperatur ( $25^\circ\text{C}$ ) sowie der Masse  $m$  des Versuchstieres.

$$\frac{\dot{M}_{\text{CO}_2}}{\dot{M}_{\text{O}_2}} = \frac{\Delta M_{\text{Abs}} - \Delta M_{\text{NAbs}}}{\Delta M_{\text{Abs}}} \quad (3)$$

$$\Delta M = \frac{\Delta U \cdot 10^6}{\Delta U(1 \text{ ml}) \cdot 10 \cdot V(298.15\text{K}) \cdot m} \quad (4)$$

$\Delta M$  = Gasflux

$\Delta U$  = Spannungsabfall

$\Delta U(1 \text{ ml})$  = Spannungsabfall bei 1ml Volumenänderung

$V(298.15\text{K})$  = Volumen von 1 mol Gas bei  $25^\circ\text{C}$

$m$  = Masse des Versuchstieres

Neben dieser Berechnung wurde der Spannungsabfall  $\Delta U$  in beiden Respirometern als Funktion der Zeit  $t$  in (Abb. 3) aufgetragen.

Kalibrierung						
$x$	Kanal 0			Kanal 1		
	$U(V)/V$	$U(V + 1\text{ml})/V$	$\Delta U/V$	$U(V)/V$	$U(V + 1\text{ml})/V$	$\Delta U/V$
1	-0.025	-3.775	-3.75	0.012	-3.820	-3.832
2	-0.020	-3.770	-3.75	0.030	-3.825	-3.855
3	-0.015	-3.785	-3.76	0.030	-3.825	-3.855
$\overline{\Delta U}$		-3.753			-3.847	

$\Delta U/V$			Messung ohne Absorbens			Messung mit Absorbens		
$t/\text{min}$	Kanal		$t/\text{min}$	Kanal		$t/\text{min}$	Kanal	
	0	1		0	1		0	1
80	-0.015	0.001	110	-0.030	-0.034	190	-0.854	-0.855
90	-0.049	-0.018	120	-0.031	-0.05	200	-0.945	-1.013
100	-0.047	-0.036	130	-0.025	-0.07	210	-1.026	-1.14
110	-0.030	-0.034	140	-0.037	-0.087	220	-1.089	-1.26
120	-0.031	-0.050	150	-0.028	-0.109			
130	-0.025	-0.070	$\overline{\Delta U}$	0.0038	-0.0146	$\overline{\Delta U}$	-0.096	-0.150
140	-0.037	-0.087	$\Delta M_{\text{NAbs}}$	-7.35	24.25	$\Delta M_{\text{NAbs}}$	186.92	248.85
150	-0.028	-0.109	Geradenausgleich			Geradenausgleich		
180	-0.071	-0.661	$a$	-0.00002	-0.00187	$a$	-0.0079	-0.0134
190	-0.854	-0.855	$u_a$	0.00016	0.000055	$u_a$	0.00045	0.00062
200	-0.945	-1.013	$b$	-0.028	0.173	$b$	0.63	1.7
210	-1.026	-1.140	$u_b$	0.087	0.030	$u_b$	0.84	1.18
220	-1.089	-1.260						

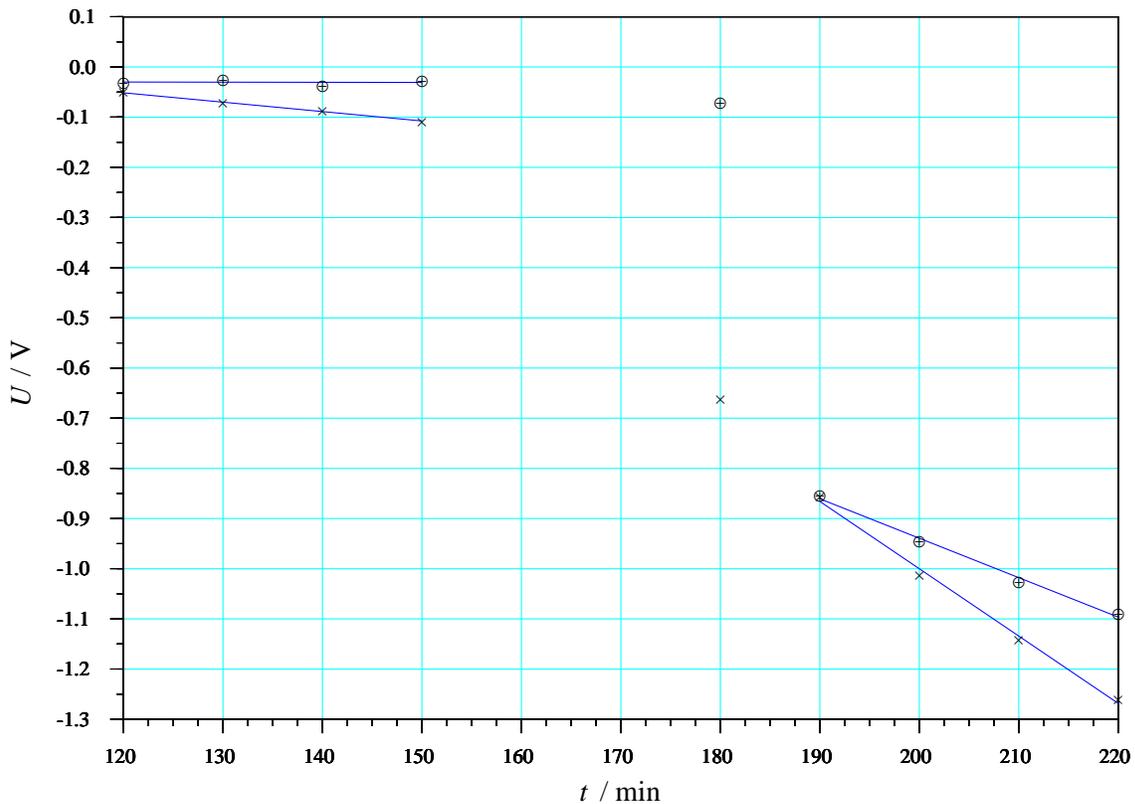


Abbildung 3: Respirometrie

## 2.2 Berechnung des $RQ$

Der respiratorische Quotient  $RQ$  ist definiert als das Verhältnis der Sauerstoffaufnahme eines Organismus zu seiner Kohlendioxidabgabe. Im vorliegenden Versuch werden die Stoffänderungsraten im Respirometer, die man einmal ohne und einmal mit Kohlendioxidabsorbtiionsmittel erhält, gemäß Gleichung (5) zur Berechnung verwendet.

$$RQ = \frac{\Delta M_{\text{Abs}} - \Delta M_{\text{NAbs}}}{\Delta M_{\text{Abs}}} = \frac{\dot{M}_{\text{CO}_2}}{\dot{M}_{\text{O}_2}} \quad (5)$$

Kanal	$RQ$	$\Delta M_{NAbs}$	$\Delta M_{Abs}$	$M_{CO_2}$	$M_{O_2}$
1	1.04	-7.35	182.92	190.27	182.92
2	0.90	24.25	248.85	224.60	248.85

### 3 Säure–Base–Haushalt

#### 3.1 Auftragung der $CO_2$ –Konzentration des Puffers und der Salzlösung gegen den $P_{CO_2}$

Im Vergleich zur Salzlösung steigt die  $CO_2$ –Konzentration in der Pufferlösung überproportional an. Als Erklärung kann hier die Pufferwirkung der Pufferlösung herangezogen werden, da  $CO_2$  nicht nur gelöst wird, sondern durch die Pufferung der Protonen das Gleichgewicht zusätzlich stark auf die Seite der Bicarbonationen verschoben wird und so mehr Kohlendioxid gelöst werden kann. Bestätigt wird diese Vermutung durch die Auftragung des pH–Wertes gegen den  $CO_2$ –Partialdruck gemäß (Abb. 5).

Der Kapazitätskoeffizient  $\beta$ , der sich gemäß

$$\beta = \frac{\Delta[CO_2]}{\Delta P_{CO_2}} \quad (6)$$

berechnet, ist seinerseits ein Maß für die Fähigkeit,  $CO_2$  zu speichern. Er liegt dementsprechend bei der Pufferlösung auch mehr als doppelt so hoch.

	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$x_4$	$x_5$	$\bar{x}$	$c$	$P_{CO_2}$	pH
Eichstandard	54.96	56.06	56.89	55.50	55.07	54.62			
Salzlsng.	2%	4.71	6.99	5.94		5.88	1.08	1.99	5.41
	4%	10.60	14.60	10.25	10.05	11.38	2.08	3.90	5.15
	8%	19.11	19.59	17.02	19.42	18.79	3.44	7.50	4.88
	10%	22.68	26.66	22.24	23.62	23.80	4.36	9.21	4.75
Pufferlsng.	2%	13.78	11.93	12.98		12.90	2.36	1.99	6.56
	4%	24.88	24.36	23.25		24.16	4.42	3.90	6.53
	8%	40.80	41.43	39.52		40.58	7.43	7.50	6.49
	10%	52.08	55.17	55.30	55.08	54.41	9.96	9.21	6.46

		$\Delta[CO_2]$	$\Delta P_{CO_2}$	$\beta$
Salzlsng.	4%	1.00	1.91	0.52
	8%	1.36	3.60	0.38
	10%	0.92	1.71	0.54
Pufferlsng.	4%	2.06	1.91	1.08
	8%	3.01	3.60	0.84
	10%	2.53	1.71	1.48

#### 3.2 pH– $P_{CO_2}$ –Diagramm für Puffer und Salzlösung

Wie schon bei der Auftragung der  $CO_2$ –Konzentration des Puffers und der Salzlösung gegen den  $P_{CO_2}$  angesprochen, besitzt die Pufferlösung, die im Versuch als Hämolymp–Ersatz zum Einsatz kommt, die Fähigkeit, Protonen zu puffern und so die Löslichkeit von  $CO_2$  durch Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes



in Richtung Bicarbonat ( $HCO_3^-$ ) zu verschieben. Dies kommt auch in der Auftragung gemäß (Abb. 5) deutlich zum Ausdruck.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die Pufferlösung und damit die Hämolymphe wesentlich mehr  $CO_2$  speichern kann, als das eine isoosmotische Salzlösung vermag.

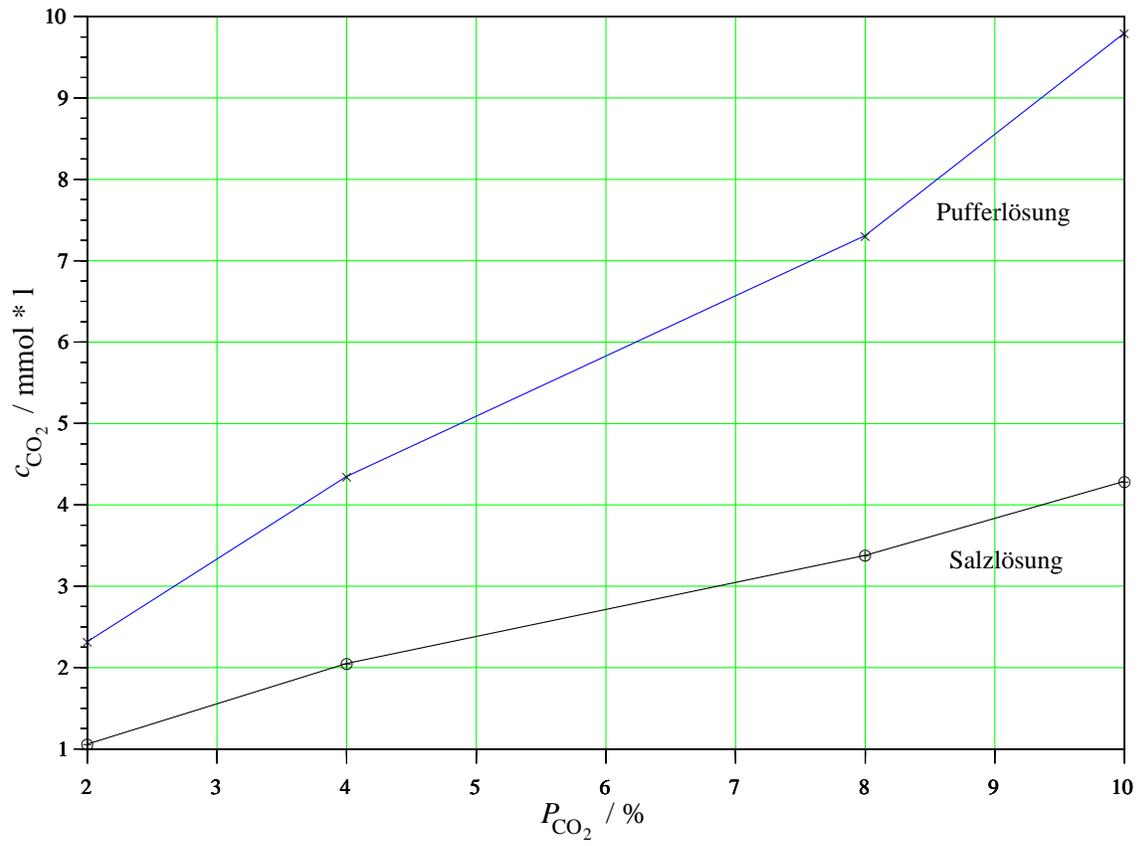


Abbildung 4: Säuren-Base-Haushalt

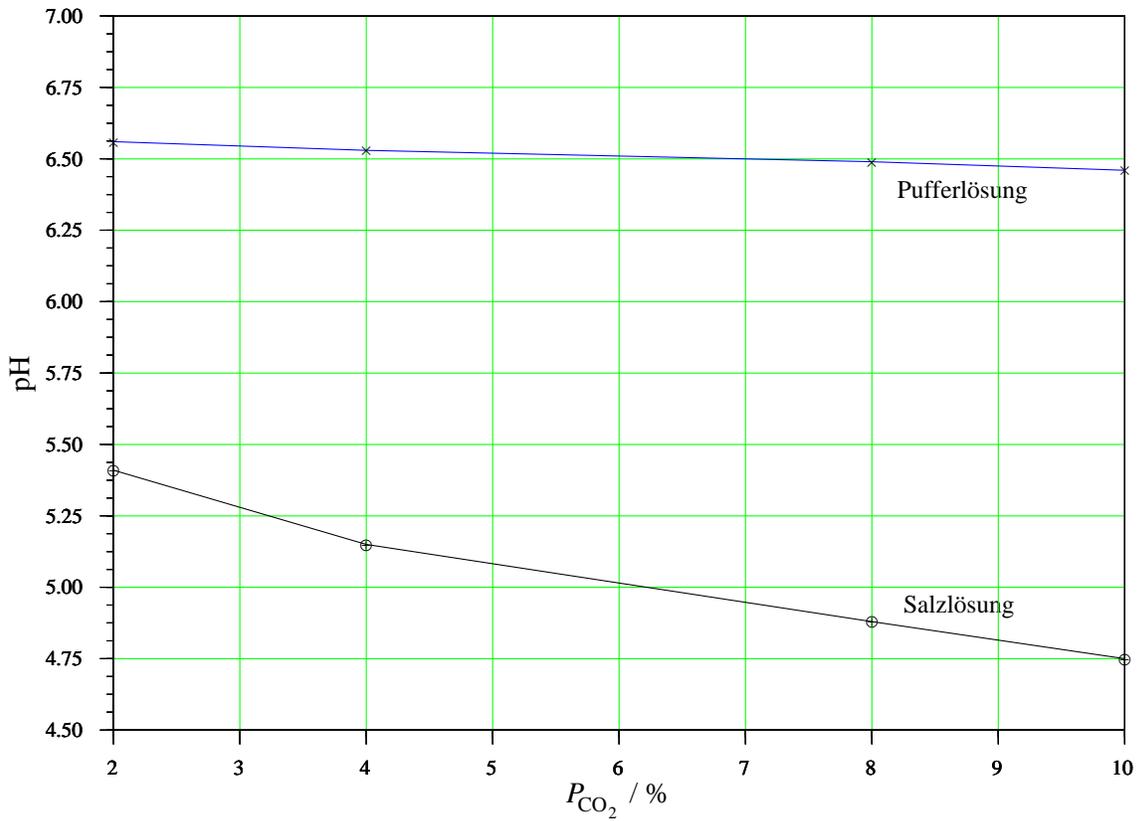


Abbildung 5: Säuren-Base-Haushalt