

MT15213 Makrorespirometer von Cassagne

I. Einleitung

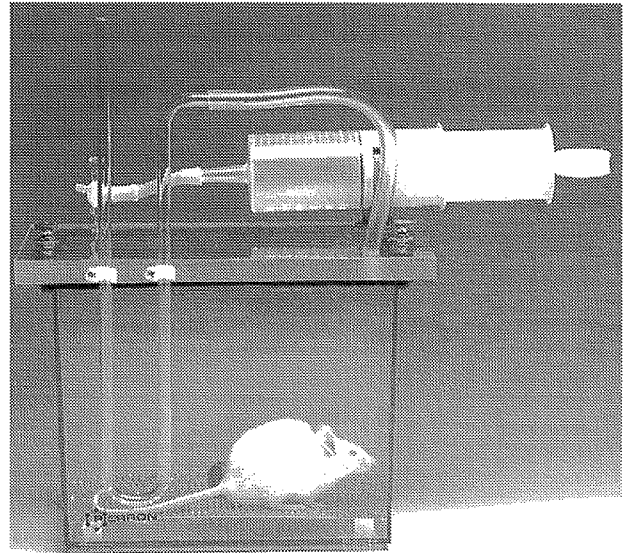
Das Makrorespirometer ist ein Gerät, das es ermöglicht, die verschiedenen Gasschwankungen (CO_2 , N_2 , O_2 ...), die innerhalb eines geschlossenen Behälters stattfinden können, zu messen. Man kann ganz konkret den quantitativen Gasaustausch bei der Atmung messen.

Die erste Aufgabe, die dieses Gerät erfüllen soll ist es, die Volumenschwankung einzelner Gase bei der Atmung zu bestimmen.

Selbstverständlich ist es auch möglich dieses Gerät bei der Fermentierung, Photosynthese etc. einzusetzen.

Wie alle „Respirationsgeräte“ basiert auch dieser Apparat auf folgenden Prinzipien:

- die Experimente nach Lavoisier, Paul Bert, Chauveau und von Wartburg, bei denen ein Produkt wie, KOH, NaOH oder Kalkwasser CO_2 absorbiert.
- das Prinzip des Eudiometers (Gasprüfer) (Volta, Gay-Lussac), ein Messgerät für die Gase CO_2 und O_2



II. Beschreibung des Gerätes

Das Makrorespirometer besteht aus folgenden Teilen:

- einem transparentem Behälter aus Plastik in folgender Größe: (B x L x H) 17 x 10 x 14 cm und einem Fassungsvermögen (Volumen) von 2,3 l. Eine Dichtung ist am oberen Rand des Behälters befestigt.
- einem Deckel, auf dem die Verbindungsrohre befestigt sind; einem Dreifachhahn, einem monometrischen Rohr und einer Spritze mit einem Volumen von 100 ml. Diese ist abnehmbar. Der Deckel ist auf dem Behälter durch zwei Griffmutter (Rändelmutter) fixiert. Die unterschiedlichen Elemente können alle abmontiert werden. Dadurch ist die Pflege des Gerätes einfach.

III. Prinzip des Gerätes

Ein dichter Behälter steht in Verbindung mit:

- 1 Manometer (Druckmessgerät) mit koloriertem Wasser, der die Druckunterschiede visualisieren kann.
- 1 Spritze, die es ermöglicht, Gas einzuspritzen oder es herauszuziehen.
- 1 Dreiwegehahn, der es ermöglicht, daß die umliegende Luft oder ein gegebenes Gas mit dem Inhalt der Spritze und der Luft des Behälters in Verbindung treten können.

IV. Theoretische Grundlagen

1. Zur Atmung

Bei der Atmung wird Sauerstoff aus der Luft absorbiert und Kohlenstoffdioxid abgegeben. In einem geschlossenen Behälter, wo sich gleichzeitig ein Lebewesen, welches atmet sowie ein Absorbierer von CO₂ (KOH z.B.) befindet, kann man bei konstanter Temperatur einen Druckabfall feststellen.

Diese Druckverminderung kann man so erklären:

- der Sauerstoff wird durch die Atmung absorbiert.
- CO₂ wird zwar wieder abgegeben, doch sogleich durch KOH aufgenommen.
- daraus resultiert dann natürlich eine Abnahme des Gasvolumen im geschlossenen Behälter.
- **dieses Defizit entspricht dem Sauerstoffvolumen, welcher durch das Lebewesen aufgenommen wurde.** Das komplette CO₂-Gasvolumen, d.h. das durch das Lebewesen ausgestoßenen aber auch der CO₂-Anteil, der zu Beginn im geschlossenen Behälter enthalten war, wurde absorbiert.

Wenn das Druckmessgerät eine entsprechende Druckabnahme angezeigt hat, ist es möglich durch Zugabe von Luft, den Ausgangsdruck wieder herzustellen. Dieses wird mit der Spritze sowie dem Dreiwegehahn bewerkstelligt.

Falls die Reibungskräfte nicht zu groß sind, kann es sein, dass der Spritzenkolben sich so bewegt, dass der Unterdruck von selbst wieder ausgeglichen wird. Dieses „ingespritze“ Gasvolumen entspricht dem absorbierten Sauerstoff.

Einmal gemessen muss die Quantität Sauerstoff in Einheiten (l, Stunde, Kg) eingeteilt werden. Dieses definiert dann die **Atmenintensität** oder **A.I.**

Beispiel: eine Maus 35g, in einem geschlossenen Behälter bei konstant 25°C, hat 72 ml O₂ während 40 min. absorbiert. Atmosphärischer Druck 764 mm, wir schreiben 764 Hg. Korrektur und Berechnung der Atemintensität:

$$\frac{72 \text{ ml} \times 764 \text{ (Px in Hg)} \times 273 \text{ (Ta°K)} \times 60 \text{ (min)} \times 1000 \text{ (g)}}{1000 \text{ (ml)} \times 760 \text{ (Pn Hg)} \times 293 \text{ (Tx°K)} \times 40 \text{ (min)} \times 35 \text{ (g)}} = 2,9 \text{ l/h/kg}$$

Die Atemintensität variiert – je nach Gattung und Größe – des Lebewesens. Der Mensch braucht z.B. den meisten Sauerstoff im Gehirn, dann in der Leber, in den Muskeln und dann in den Knochen...

Bei Pflanzen und bei wechselwarmen Tieren wächst die Atmenintensität mit dem Anstieg der Temperatur. Bei den Warmblütern ist das Verhältnis umgekehrt.

In allen Fällen wächst oder steigt die Atemintensität je nach physiologischer Aktivität (motorische Aktivität, Verdauung...). Beispielsweise steigen die Werte beim Menschen von 0,25 l/h/kg (in Ruhe) bis auf 3 l/h/kg (bei einer intensiven körperlichen Belastung).

Falls man den gleichen Versuch noch einmal durchführen würde – diesmal jedoch ohne den CO₂ Absorber – entspräche der eventuell gefunden Druckunterschied der Differenz zwischen den Volumen den absorbierten Sauerstoffs und dem ausgestoßenen CO₂. Man müsste also mit dem vorherigen Ergebnis die Quantität des ausgestoßenen CO₂ bestimmen können.

V₁ = absorbiertes O₂ - Volumen

V₂ = absorbiertes O₂ - Volumen V₃ des abgegebenen CO₂

V₃ = Volumen des abgegebenen CO₂ = V₁ - V₂

Dieses ermöglicht uns den **Atmungsquotient nach Pflugler** oder A.Q. zu errechnen, der die Beziehung zwischen dem abgegebenen CO₂-Volumen und dem O₂-Volumen (absorbiert) darstellt.

$$\text{A.Q. (Atmungsquotient)} = \frac{V_3 \text{ Volumen des abgegebenen CO}_2}{V_1 \text{ Volumen des absorbierten O}_2}$$

Versuch:

Setzen wir nun die Daten in den oberen Term ein. Wir wiederholen den Versuch mit der gleichen Maus unter den gleichen Versuchsbedingungen (Temperatur, Druck). Das Makrorespirometer ohne Pottaschen (Kaliumcarbonat) zeigte bei Messung eine Differenz von 15 ml in 32 Minuten an. $V_2 = O_2 - CO_2 = 15 \text{ ml}/32 \text{ min}$, also $0,015 \text{ l}/32 \text{ min}$, also $0,28 \text{ l/h/kg}$.

Berechnung des Atemquotienten:

$V_1 = \text{Volumen des absorbierten O}_2 = 72 \text{ ml in } 40 \text{ min} = 2,9 \text{ l/h/kg}$

$V_2 = O_2 - CO_2 = 0,015 \text{ l in } 32 \text{ min} = 0,028 \text{ l/h/kg}$

$V_3 = \text{Volumen des abgegebenen CO}_2 = 2,9 - 0,028 = 2,87 \text{ l/h/kg}$

$\text{A.Q.} = V_3 : V_1 = 2,87 : 2,9 = 0,99$

Der A.Q. liefert nähere Indizien zu der aufgenommenen Nahrung: Kohlenhydrate, Fette oder Proteine benötigen zur Verdauung unterschiedliche Mengen an Sauerstoff.

Wenn die Nahrung vielseitig ist liegt der A.Q. bei ca. 0,85.

Je mehr man sich 1 annähert, umso größer ist die relative Menge an Kohlenhydraten. Man findet einen Wert von 0,7 falls nur Lipide (Fette und fettähnliche Stoffe) verwendet wurden. Der Wert liegt nahe bei 0,8 falls hauptsächlich Proteine verfüttert wurden.

In unserem Beispiel hätte die Maus hauptsächlich Kohlenhydrate gefressen. Man könnte die Quantität an ausgestoßenem CO_2 durch das Wiegen der Pottasche – vor und nach dem Experiment – bestimmen.

2. Bemerkungen zur Fermentation

Nur die Buttersäuregärung, sowie die alkoholischen Gärung können näher untersucht werden, da diese beiden Arten CO_2 liefern.

3. Bemerkungen zur Verwendung von chlorophyllhaltigen Pflanzen

Man könnte auch eine kleine grüne Pflanze (im Blumentopf) verwenden, einen Ast oder Blätter und dann den diversen Gasaustausch O_2 und CO_2 untersuchen. Lichtverhältnisse oder auch andere Versuchsbedingungen (Dämpfe, Temperatur...) können variiert werden. Das Phänomen der Photosynthese, sowie der Atmung wird beeinflusst.

4. Chemosynthese

Wenn man die Verhärtung der Hülsenfrüchte verwendet, kann man die Veränderungen des darin enthaltenen Stickstoffes bemerken (ein ziemlich langwieriger Versuch). Um die Verhärtungen zu studieren benötigt man Hülsenfrüchte wie Luzerne, Erbsen, Bohnen...

V. Technische Verwendung

Vorbereitende Versuche

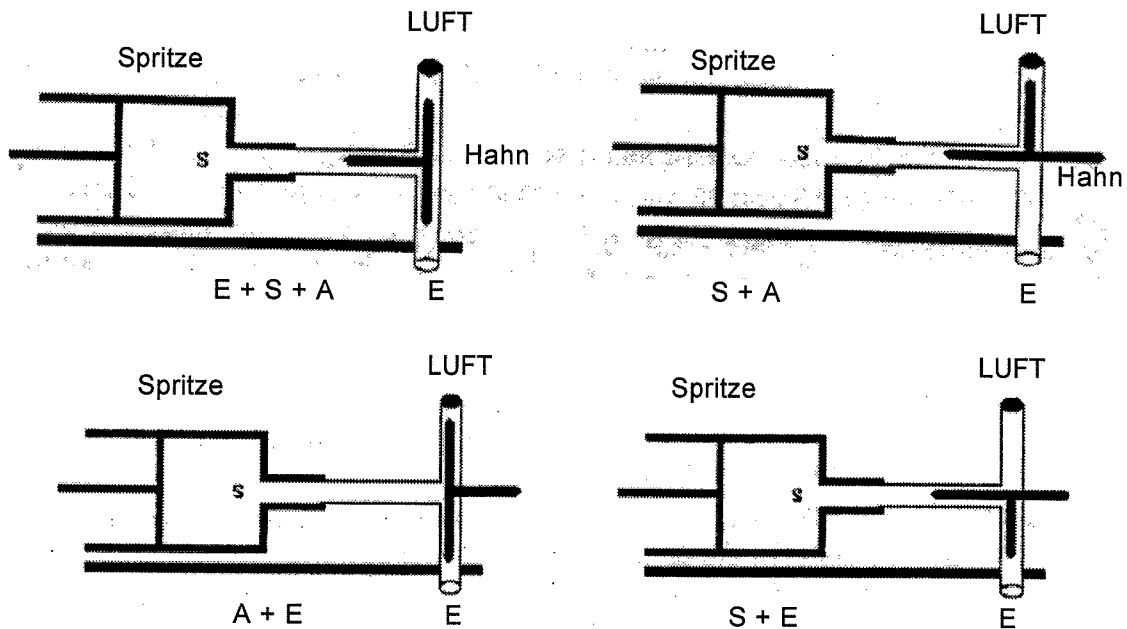
1. Versuch im Vakuum

a. kein KOH

b. keine Tiere noch Pflanzen

c. das Rohr des Druckmessers (Manometer) mit koloriertem Wasser bis zur halben Höhe jedes Zweiges füllen.

d. den Dichtungsring schließen
(man wird den Hahn im Uhrzeigersinn drehen)



e. dann stellt man den Hahn auf Position E + S + A, dies heißt: dicht, Spritze und Außenluft. Die Spritze muss leer sein.

f. Hahn in Position S + A

Der Behälter ist also geschlossen. Man saugt nun Luft an mit Hilfe der Spritze bis zur Position des maximal Volumens, die wir O nennen. Achtung die Spritzen sind entgegengesetzt graduiert! Man muss ziehen oder drücken und dabei das kolorierte Wasser des Druckmessers beobachten, dass dieses nicht weniger als 1 cm vom unteren Bogen entfernt bleibt. Ansonsten kann sich der Siphon sehr schnell entleeren. Aus diesem Grunde raten wir, das kolorierte Wasser bis zur Hälfte der Höhe des Manometers aufzufüllen. Dieses führt zur optimalen Benutzungsbedingungen.

g. man dreht den Hahn auf S + E:

Falls kein Leck vorhanden ist oder sich die Temperatur verändert, sollte die Spritze sowie der Manometer in Position O bleiben. Wenn dies nicht der Fall sein sollte, d.h., dass sich Spritze oder Manometer bewegen:

- beheben Sie die undichte Stelle
- legen Sie alle beispielsweise in ein Aquarium.

Bemerkungen:

- Die Position A + E, die oben nicht erläutert wurde, ermöglicht es, eine Verbindung zwischen geschlossenem Behälter und der umgebenden Luft oder einem anderen Gas herzustellen.
- Es ist von entscheidender Bedeutung, dass man zuerst die unterschiedlichen Möglichkeiten der Hahneinstellung kennt. Man sollte sich unbedingt damit vorher vertraut machen! Man kann auch die eventuellen Verschiebungen der Spritze während einer bestimmten Dauer messen, um das Monometer auf der Position O zu halten.
- Man kann ebenfalls die Variationen des Volumens und des Drucks in Abhängigkeit von Temperatur innerhalb des geschlossenen Behälters untersuchen, so dass man gegebenenfalls bei den folgenden Experimenten korrigieren kann.
- Man sollte das Manometer vorher eichen.
- Diese ganzen Vorübungen sind auch erste Schritte, sich mit dem Makrorespirometer auseinanderzusetzen.

2. Versuch mit KOH

Gleiches Versuchsprotokoll wie bei Versuch 1, allerdings bringen wir jetzt auf den Boden unseres Behälters etwas KOH aus. Es müsste sich kaum eine Veränderung ergeben, da der CO₂-Gehalt der Luft fast verschwunden ist (0,003%).

Bemerkung: Dieses Experiment gibt ein noch besseres Verständnis für die kommenden Versuche.

3. Versuch mit CO₂, aber ohne KOH

Gleiche Versuchsvorschrift wie bei Versuch 1, aber statt Luft mit der Spritze aufzusaugen (Hahn S + A), nimmt man CO₂ ab.

Man injiziert langsam CO₂ in das geschlossene Gefäß, beobachtet währenddessen aber aufmerksam das Manometer, dann lässt man die Spritze los:

- man konnte eine Druckerhöhung am Manometer feststellen
- wenn die Temperatur stabil war, bleibt das ganze System stabil.

(Variante: man hält mit dem Daumen den oberen Teil des Manometers zu, man entnimmt die Spritze und dann zieht man den Daumen weg, wenn der Ausgang „Luft“ in Verbindung mit dem CO₂ steht (A + E). Es wäre besser, wenn man diesen Versuch zu zweit durchführen könnte).

4. Versuch mit CO₂ und KOH

Gleiche Versuchsvorschrift wie die vorherige.

Man beobachtet, dass das CO₂ absorbiert wird. Man kann sogar die Geschwindigkeit dieser Absorption in Funktion der Menge an KOH im Behälter berechnen.

5. Versuch mit dem O₂ Absorber

- Wir geben 50 ml O₂ (1/5 Pyrogallol (Pyrogallussäure) + 4/5 KOH M/2) in ein Becherglas
- sonst befindet sich nichts im Behälter
- Manometer in den Funktionsstand bringen
- die Dichtung schließen
- Hahn E + S + A
- dann Hahn auf S + A stellen
- danach Hahn auf S + E drehen: man beobachtet eine Druckabnahme aufgrund der Sauerstoffabsorption; ein Unterdruck der wieder automatisch durch die Spritze oder mit Hilfe der Versuchsperson ausgeglichen wird. Wenn man eine ganze Spritze injiziert hat, kann man sie wieder mit Hilfe des Hahns in Position S + A füllen. Jetzt nimmt man natürlich ein anders Gas, z.B. N₂ oder CO₂, wenn man ein quantitatives Ergebnis haben möchte. Der Behälter, der 2,5 l fasst, enthält ungefähr 0,5 l Sauerstoff. Dies entspricht einem Äquivalent von 5 Spritzen.

VI. Pädagogische Verwendung

1. Experimente mit kleinen Tieren (Mäusen, Insekten, Weichtieren, Würmern)

Es sollten bei diesen Experimenten jedoch elementare Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden, um nicht das Leben der Tiere zu gefährden. Auch sollten keinesfalls Tiere gequält werden! Vergewissern Sie sich deshalb vorher von der Gebrauchsfertigkeit- und -üchtigkeit des Gerätes. Es müssten ungefähr 0,5 l Sauerstoff im Behälter sein. Um die vitale Aktivität des Lebewesens korrekt aufrechtzuerhalten (ohne dass es leidet) sind circa 16% Sauerstoff notwendig. Das heißt das Tier hat „nur“ 0,1 l Sauerstoff zur Verfügung, also eine Spritze voll. Man sollte also das Experiment über die Absorption von O₂ beenden, sobald man 100 ml (generell zwischen 10 mn und 30 mn je nach Art des Tieres und je nach der Aktivität) eingespritzt hat, es sei denn, dass man Sauerstoff statt Luft injiziert.

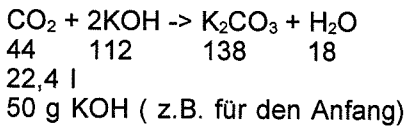
Protokoll zur Bestimmung der Atemintensität und der A.Q.:

- schließen Sie den Makrorespirometer und führen sie einen Probedurchgang durch, um zu testen, ob das System dicht ist.
- nehmen Sie das Manometer in Betrieb (koloriertes Wasser bis zur Hälfte der einzelnen „Zweige“ des Druckmessers)
- Hahn: S + E + A aufdrehen; danach öffnen Sie das Makrorespirometer
- nun stellen Sie das Gefäß mit KOH an seinen Platz (das Wiegen vorher aber nicht vergessen!)
- bringen Sie das Tier – nachdem Sie es gewogen haben – in das Gerät und lösen Sie gleichzeitig die Zeitmessung aus
- schließen Sie mit der Dichtung ab
- Hahn: S + E oder S + A (der Behälter ist nun vollständig isoliert); in diesem Fall jedoch muss man A verstopfen während des Übergangs zu S + E; notwendig für die Messung.

Man misst an allen Einheiten zu den festgelegten Zeitpunkten (z.B. 5 oder 10 Minuten) die Bewegung der Spritze oder man stellt das Manometer auf 0, indem man die Spritze betätigt. Man schreibt auch die Ergebnisse der Testgeräte auf (besonders die des Thermometers).

Bemerkungen:

- Die Versuchsergebnis wären noch aussagekräftiger, wenn man das Makrospirometer in ein großes - mit Wasser gefülltes - Aquarium gäbe, denn dann würde die Temperatur der umgebenen Luft besser reguliert.
- Um die Quantität des abgegebenen CO₂ zu berechnen, könnte man auch die Masse der Pottasche erhöhen. Pottasche absorbiert auch das Wasser, welches von der Atmung herrührt. Man sollte also vor dem Wiegen zuerst das Wasser entfernen.



$$\text{KOH} + \text{K}_2\text{CO}_3 = 52 \text{ g}$$

Wenn man unterstellt, dass die Differenz von 2 g der Bildung von K₂CO₃ entspricht kann man das Volumen des abgegebenen CO₂ berechnen:

$$\frac{2 \times 22,4 \text{ l}}{138} = 0,32 \text{ l}$$

Wenn man jedoch die Kapazitäten des Apparates näher betrachtet, erkennt man, daß die 100 ml abgegebenes CO₂ nicht überschritten werden können, was jedoch einen Unterschied in der Masse von nicht mehr als einigen dg ausmacht.

Der Wasserdampf, der bei der Atmung freigesetzt wird, stellt uns ebenfalls vor Probleme. Man erhält z.B. negative Werte bei beiden Methoden. Man erhält negative Werte für V² (CO₂ erscheint höher als O₂). Man kann diesen Effekt durch das Beibehalten einer konstanten Temperatur (nicht zu hoch!) minimalisieren.

Bestimmung der Atemintensität (A.I.) und des A.Q. eines Küken (50 g)

	Experimentelle Werte	Korrigierte Werte
A.I. mit KOH O ₂ = V ₁	45 ml / 15 min à 27°C und 758 Hg	3,26 l/h/kg
A.I. ohne KOH O ₂ - CO ₂ = V ₂	4 ml / 10 min à 27°C und 758 Hg	0,43 l/h/kg
V ₃ = V ₁ - V ₂ = CO ₂		2,8 l/h/kg
A.Q. = V ₃ : V ₁ = CO ₂ : O ₂		0,86

Berechnung:

$$A.I. = \frac{45 \times 758 \times 273 \times 60 \times 1000}{1000 \times 760 \times 300 \times 15 \times 50} = 3,26 \text{ l/h/kg}$$

$$V_2 = \frac{4 \times 758 \times 273 \times 60 \times 1000}{1000 \times 760 \times 300 \times 10 \times 50} = 0,43 \text{ l/h/kg}$$

Andere Werte der A.I.:

- Maden: von 0,7 bis 8 l/h/kg
- Kellerasseln: von 0,8 bis 9 l/h/kg
- Regenwurm, Schnecken, Nacktschnecken: von 0,07 bis 7 l/h/kg
- Ratten: von 0,3 bis 3 l/h/kg
- Mäuse: von 6 bis 10 l/h/kg
- Frösche: 0,5 bis 1,5 l/h/kg
- (im Bezug zu Menschen: 0,25 bis 3 l/h/kg)

2. Experimente mit kleinen Pflanzen (Hefe, Efeu, Pilze etc. in einer Petrischale)

Gleiches Versuchsprotokoll.

Bei Versuchen mit chlorophyllhaltigen Pflanzen muss man sich bewusst sein, dass bei der Photosynthese CO_2 absorbiert und O_2 abgegeben wird.

Mit Hefepilzkulturen kann man die Atmung aber auch die Gärung näher betrachten. Bei der Gärung muss man O_2 durch N_2 ersetzen.

Versuch mit 45 g frischen Salatblättern

(im Dunklen, keine Photosynthese, aber Atmung)

	experimentelle Werte	korrigierte Werte
A.I. mit KOH $\text{O}_2 = V_1$	85 ml / 5h 07mn / 45 g à 25°C und 760 Hg	0,34 l/h/kg
A.Q. ohne KOH $\text{O}_2 - \text{CO}_2 = V_2$	9 ml / 4 h 30 mn	0,04 l/h/kg
woraus CO_2		0,3 l/h/kg
woraus A.Q.		0,8

Andere Werte bei den Pflanzen:

Gerste, Weizen ... trockene Körner: unbedeutend 0,0004 l/h/kg

Gerste, Weizen bei der Keimung: 1,5 l/h/kg

Hefe mit Sauerstoff: 50 l/h/kg

Früchte (Äpfel, Birnen...): von 0,03 bis 1,4 l/h/kg

Halten wir fest, daß Ölfrüchte (Ölsaaten) einen A.Q. nah an 0,7 haben und daß die zuckerhaltigen Samen einen A.Q. von 1 haben. Dieses bestätigt, was wir auch bei Tieren feststellen konnten. Erinnern wir uns auch daran, daß die Atemintensität bei den grünen Pflanzen mit dem Gehalt an Sauerstoff ansteigt. Sie wird durch anästhetische Substanzen stimuliert, durch die Zucker und Mineralsalze. Temperatur und auch Lichtintensität können einen entgegengesetzten Effekt – je nach Intensität – auslösen.

Im Licht erwartet man – falls die Pflanze sich in einem guten Zustand (physiologisch) befindet (dies ist leider nicht immer der Fall bei zugeschnittenen Blättern) - ein Freisetzen von Sauerstoff, der das Defizit an Sauerstoff, der durch die Atmung aufgenommen wird, kompensiert. Achtung, wenn man CO_2 durch einen Absorber bindet, dann könnte die Photosynthese wesentlich eingeschränkt oder sogar blockiert werden.

Versuch mit 45 g Salat

Dieses Mal werden die Blätter beleuchtet (Photosynthese findet statt) und man arbeitet ohne KOH.

Unter diesen Versuchsbedingungen findet folgender Gasaustausch statt:

Photosynthese + O_2 abgegeben

Atmung - O_2 absorbiert

Atmung + CO_2 abgegeben

Photosynthese- CO_2 absorbiert

Gefundene Werte: 80 ml/3h/45 g à 25°C und 760 Hg

$$\frac{80 \times 760 \times 273 \times 60 \times 1000}{1000 \times 760 \times 298 \times 180 \times 45} = 0,54 \text{ l/h/kg}$$

Wenn man annimmt, dass die Volumina beim Gasaustausch (bei der Atmung) die gleichen unter beiden Bedingungen sind (Licht und Dunkelheit) – eine Annahme, die trotz des realen Einflusses des Lichtes gilt, kann man das Volumen des Gasaustausches bei der Photosynthese durch die Differenz bestimmen:

$$0,54 - 0,04 = 0,5 \text{ l/h/kg}$$

3. Experiment mit Tiergewebe oder frischen Pflanzen

Gleiche Versuchsvorschrift.

Achten Sie auf die Frische der Gewebe, so dass nicht Gärung (Fermentation) und Atmung verwechselt werden können. Vergessen Sie ebenfalls nicht, einen Vergleichsversuch mit den gleichen Geweben – diesmal jedoch gekocht (also lebloses Gewebe) – durchzuführen.

4. Bemerkung

Bei allen drei Experimenten könnte man wiederholt Luft oder ein anders Gas (Sauerstoff, Kohlendioxid, Stickstoff...) dank der verschiedenen möglichen Positionen eingeben: S + A (Luft oder ein anderes Gas) gefolgt von S + E...