

Stofskiftets afhængighed af temperatur og aktivitet hos vekselvarme dyr

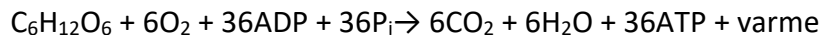
Besøget retter sig primært til elever med biologi på B- eller A-niveau

Øvelsen tager typisk 3 timer

Introduktion

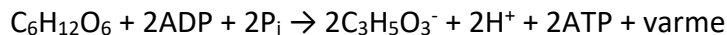
Stofskiftet er en samlede betegnelse for alle kroppens biokemiske reaktioner. Dyrenes energiomsætning er således et udtryk for den samlede mængde energi der forbruges under forskellige omstændigheder. Dyr optager kemisk energi fra føden og omdanner denne energi til forskellige former for fysiologisk arbejde (bevægelse, proteinsyntese, opbygning af koncentrations gradienter over membraner mm.). I sidste ende bliver denne energi dog til varme som forlader dyret og et direkte mål for stofskiftet er således varmeproduktionen.

I eksemplet nedenfor ses respirationsligningen for forbrænding af glukose. Af denne kan man se at stofskiftet også kan bestemmes eksperimentelt ved at måle forbruget af fødens kemiske energi som f.eks glukose ($C_6H_{12}O_6$) eller ved at måle forbruges af ilt og/eller ved at bestemme produktionen af CO_2 .



Selvom det direkte mål for stofskiftet er varmeproduktionen er det ofte mere almindeligt at bestemme iltoptaget i kombination med CO_2 udskillelsen.

Når ilt ikke er til stede, kan den normale forbrænding af fødens kemiske energi ikke forløbe (den oxidative phosphorylering er inhiberet), og ATP dannelsen foregår dermed kun igennem anaerobe processer hvor glukose omdannes til mælkesyre:



Det fremgår hermed, at måling af varmeafgivelse (kaliometri) giver et samlet mål for både det aerobe og anaerobe stofskifte, mens en måling af iltoptaget kun beskriver det aerobe stofskifte. Iltforbrug er således kun et godt mål for stofskiftet når det anaerobe stofskifte ikke bidrager væsentligt, hvilket er en rimelig antagelse i hvile samt under mindre arbejdsbelastninger. Under hårdt fysisk arbejde, eller ved iltmangel, kan det anaerobe stofskifte, som hos hvirveldyr indebærer en produktion af mælkesyre, dog udgøre en stor del af det samlede energistofskifte.

Oplysninger om stofskiftets størrelse under forskellige forhold er også af interesse i mange økologiske sammenhænge, fordi det hænger sammen med, hvor meget føde dyrene forbruger. I forbindelse med fysiologiske analyser af lungefunktion, blodkredsløb osv. er det selvfølgelig vigtigt at vide, hvor meget ilt disse organsystemer transporterer.

Teori

Hvile- og aktivt stofskifte hos dyr

I denne øvelse måles temperaturens indflydelse på dyrs iltforbrug i hvile og under arbejde.

Dette gøres ved at måle iltoptagelse og kuldioxidudskillelse på Agatudser (*Rhinella marinus*) ved to forskellige temperaturer, i hvile og i aktivitet.

Til målingerne anvendes såkaldt lukket respirometri. Dyret befinder sig her i et lukket kammer, hvorfra der tages luftprøver på to forskellige tidspunkter. Ud fra kendskab til kammerets volumen (V_{kammer}), tiden mellem de to prøvetagninger (Δt) og ændringerne i koncentrationerne af O_2 og CO_2 (ΔF_{O_2} og ΔF_{CO_2}) kan O_2 forbruget og CO_2 produktionen beregnes ud fra:

$$\dot{V}_{CO_2} = \frac{\Delta F_{CO_2} \cdot V_{\text{Kammer}}}{\Delta t \cdot m_{\text{Dyr}}}$$

$$\dot{V}_{O_2} = \frac{\Delta F_{O_2} \cdot V_{\text{Kammer}}}{\Delta t \cdot m_{\text{Dyr}}}$$

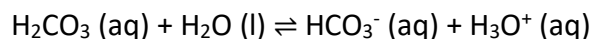
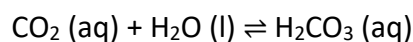
Prikken over V betyder, at det er en rate. Da vi beregner vægtspecifikke størrelser (altså f.eks. $\text{mL } O_2 \text{ min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$), skal der også divideres med dyrets vægt (m_{Dyr}).

Forholdet mellem den afgivne mængde CO_2 og den optagne mængde O_2 kaldes det respiratoriske gasudvekslingsforhold og benævnes RE.

$$RE = \frac{\dot{V}_{CO_2}}{\dot{V}_{O_2}}$$

Hvis dyret er i ligevægt vil udvekslingen af ilt og CO_2 fra lungerne afspejle den form for kemisk energi der forbrændes i cellerne. Forbrænding af fedt, sukker og protein udløser forskellige ratio af CO_2/O_2 og når man taler om denne ratio på det cellulære plan så udtrykkes dette som den respiratoriske kvotient. (RQ). Ved ren forbrænding af kulhydrat er RQ lig 1 (forklar hvorfor ud fra respirationsligningen). Ved ren forbrænding af protein er RQ lig 0,8 og den er 0,73 ved ren forbrænding af fedt.

Som sagt er $RE = RQ$ hvis dyret er i aerob balance, men hvis dyret producerer mælkesyre er det ikke nødvendigvis tilfældet. I blodet findes flere buffersystemer, som er nødvendige for at opretholde en konstant pH. Kuldioxid og hydrogencarbonat er det par, der findes opløst i størst koncentration:



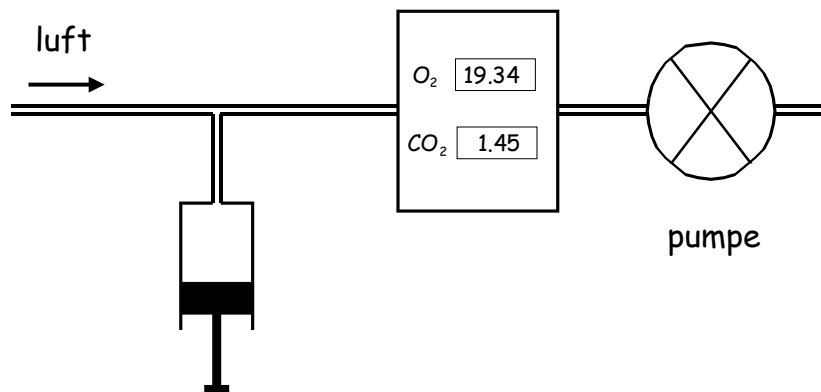
Når der under anaerobt stofskifte dannes mælkesyre og hydroner (H^+) vil hydronerne reagere med vand og danne oxonium. Dette forskyder ligevægtene mod venstre, hvorved der dannes CO_2 der ikke kommer fra aerob forbrænding af glucose. Herved kan RE blive større end 1.

Fremgangsmåde

Kalibrering

Apparatet måler luftens procentvise indhold af hhv. O₂ og CO₂. Start altid en måling med at aflæse indholdet af O₂ og CO₂ i ren luft.

O₂ og CO₂ målerne skal kalibreres (= finjusteres). Disse er forbundet i serie, og en pumpe suger hele tiden luft igennem dem. Når man skal måle, påsættes sprøjten med luftprøven trevejshnanen og den injiceres hurtigt ind i luftstrømmen. Værdierne aflæses hurtigt



herefter, når de er konstante. Kalibreringen foretages ved at sprøjte to kendte gasblandinger ind og indstille apparaterne på de respektive værdier. Vi anvender atmosfærisk luft (20,95% O₂, 0,04 % CO₂) og en 5% blanding af ren CO₂ og atmosfærisk luft (19,90 % O₂, 5,04 % CO₂). Vigtigt: Apparatet er meget følsomt overfor fugt, så vær meget påpasselige med at undgå at få vand i sprøjten.

Måling af hvilestofskifte

Tudserne er på forhånd anbragt i termoskabe ved henholdsvis 15 og 25 °C. For at få de bedst mulige hvilestofskiftemålinger er det vigtigt, at dyrene håndteres så lidt som muligt inden målingen.

Start med at orientere dig om hvordan trevejshnanen i respirationskammeret fungerer.

Vej kammeret med låg. Anbring derefter tudsen i kammeret og vej igen. Luk trevejshnanen, start stopuret og lad tudsen stå i kammeret uden at blive forstyrret i 20 min.

Herefter udtages en 40 mL luftprøve, som analyseres for O₂ og CO₂. Denne prøve tages på følgende måde: *Mens kammeret er lukket, fyldes sprøjten via den ene trevejshane til ca. 40 mL (der er nu undertryk i kammer og sprøjte). Dernæst åbnes kammerets anden trevejshane, så der trykudlignes inden sprøjten fjernes.*

Efter at målingen er foretaget, luftes der ud i respirationskammeret ved at lette på låget.

Måling af stofskifte under arbejde

Stofskiftet måles på samme måde som under hvile. Når kamrene lukkes (husk at starte stopuret), anspores tudsen til at arbejde ved at dreje kammeret ca. en halv omgang. Dette får dyret til at kravle tilbage, hvorefter kammeret straks drejes igen. På denne måde kan dyret holdes i et rimeligt konstant og nær maksimalt aktivitetsniveau i lang tid. Da stofskiftet nu er meget højere end i hvile, kan man nøjes med at holde kamrene lukkede i ca. 2- 5 min. Det er vigtigt at tage slutprøven, nøjagtigt når aktiviteten stoppes, dvs. når tudsen ikke vender sig om, men bliver liggende på ryggen.

For at kunne lave databehandlingen, skal du huske at bestemme kammerets volumen.

Resultater

$m_{\text{kammer med låg}} =$	kg
$m_{\text{tudse}} =$	kg
$\Delta t_{\text{hvile}} =$	min
$\Delta t_{\text{aktivitet}} =$	min
$V_{\text{kammer}} =$	mL
$V_{\text{tudse}} =$	mL

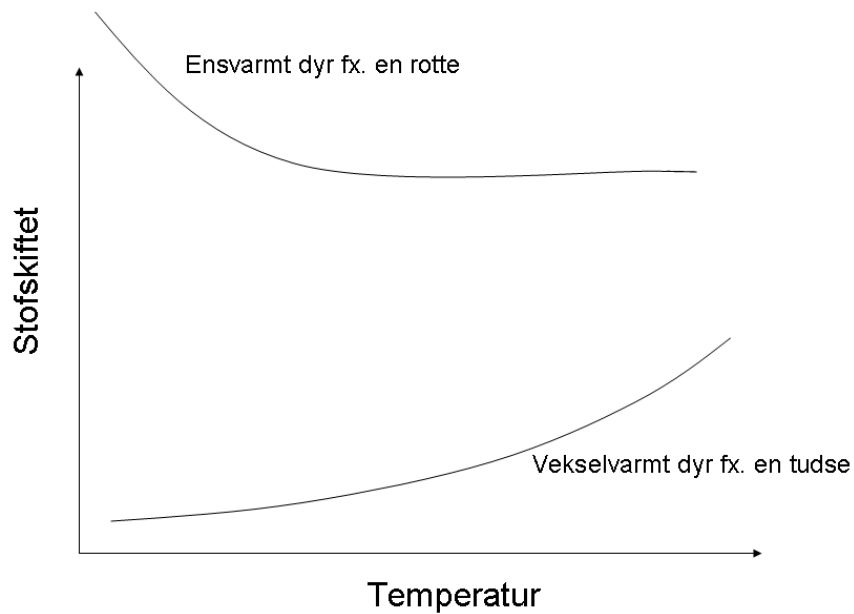
Beregn stofskiftet defineret som V_{O_2} og V_{CO_2} i hvile og aktivitet ved henholdsvis 15 og 25 °C. (For at bestemme stofskiftet, skal du kende tudsens volumen. Regn her med en densitet på 1g/mL).

Husk at V_{O_2} og V_{CO_2} angives i hhv. mL $O_2 \text{ min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ og mL $CO_2 \text{ min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$. Til beregningen skal du derfor bruge mængden af ilt i kammeret før og efter, tudsens vægt og den præcise tid fra målingens start til slut. Iltforbruget i mL kan du beregne, hvis du kender kammerets volumen (minus tudsens volumen!) og luftens % vise indhold af fx. O_2 før og efter.

Det opsamlede datamateriale sendes til skolen efter besøget, således at efterbehandlingen foregår hjemme på skolen.

Diskussion

- Sammenlign jeres tal for tudsens stofskifte i hvile og under arbejde. Er der forskel og hvor stor er den i så fald? Kan man forvente den samme forskel i stofskiftet mellem hvile og arbejde hos et ensvarmt dyr?
- For et vekselvarmt dyr stiger stofskiftet ca. 2 gange hver gang temperaturen stiger 10 °C. ($Q_{10} = 2$. Q_{10} står for hvor mange gange stofskiftet ændrer sig, ved en temperaturændring på 10 °C). Stemmer det overens med jeres resultater?
- Beregn den respiratoriske kvotient, RQ for tudsen under hvile. Hvilket stof har tudsen forbrændt?
Beregn det respiratoriske gasudvekslingsforhold, RE for tudsen under aktivitet.
Forklar, hvorfor I skal beregne RQ under hvile og RE under aktivitet.
- Nedenfor ses to grafer, som beskriver stofskiftet hos hhv. et ensvarmt og et vekselvarmt dyr ved forskellige temperaturer. Beskriv de to grafer og sammenlign stofskiftet hos tudsen i hvile med et pattedyr i hvile af samme størrelse (f.eks. en rotte). Hvorfor er kurverne så forskellige?
Ved 25 °C er rottens stofskifte ca. 10 gange højere end tudsens. Hvorfor? Hvad betyder det for pattedyrenes behov for føde?



- Beskriv optagelsen af ilt i lungerne og transporten af ilt ud i kroppen.

Forslag til lærebøger, hvor eleverne kan lære om iltoptag og stofskifte før besøget

- Fysiologibogen – den levende krop, Nucleus 2006: s. 47-57, 90-95
- Biokemibogen, Nucleus 2007: s. 121-131
- Biologi i fokus, Nucleus 2009: s. 21-41
- Fysiologi – kroppens funktioner, Nucleus 1998: s. 65-89
- Biokemi og molekylærbiologi, Nucleus 2000: s. 163-191