

Stofskiftets afhængighed af temperatur og aktivitet hos vekselvarme dyr

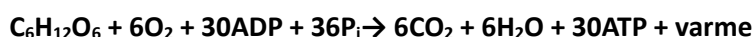
Besøget retter sig primært til elever med biologi på B- eller A-niveau

Øvelsen tager typisk 3 timer

Introduktion

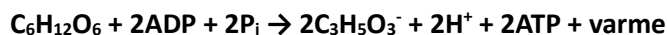
Stofskiftet er en samlede betegnelse for alle kroppens biokemiske reaktioner. Dyrenes energiomsætning er således et udtryk for den samlede mængde energi der forbruges under forskellige omstændigheder. Dyr optager kemisk energi fra føden og omdanner denne energi til forskellige former for fysiologisk arbejde (bevægelse, proteinsyntese, opbygning af koncentrationsgradienter 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 Hvæsekakerlakker (*Gromphadorhiina portentosa*) 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 ($V_{\text{kammerluft}}$), 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:

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

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

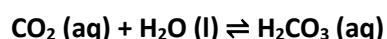
F_{O_2} og ΔF_{CO_2} betyder blot at procentvist gasindhold skal omformes til det fraktionelle indhold (altså et decimaltal). Prikken over V 'et betyder, at det er en rate (der måles per tidsenhed). Da vi beregner vægtspecifikke størrelser (altså f.eks. $\text{mL } O_2 \text{ min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$), skal der også divideres med dyrets vægt (m_{dyr}). Kammeret har en volumen på 3000 mL, men dyrene i kammeret fylder også noget så $V_{\text{kammerluft}}$ skal bestemmes ved antagelse af at kakerlakkerne har en massefylde på 1 mL per 1g.

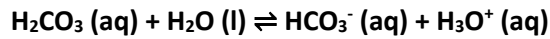
Forholdet mellem den afgivne mængde CO_2 og den optagne mængde O_2 kaldes det respiratoriske gasudvekslingsforhold og benævnes RE.

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

Hvis dyret er i ligevægt (ingen vækst, fordøjelse eller anaerobt stofskifte) vil udvekslingen af ilt og CO_2 fra lungerne afspejle den kemiske 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 uden anaerobt stofskifte 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:

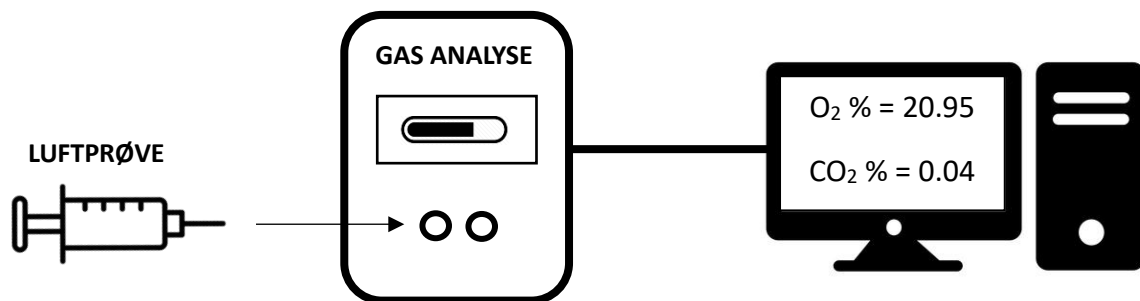




Når der under anaerobt stofskifte dannes mælkesyre og hydroner (H^+) vil hydronerne reagere med vand og danne oxonium. Dette forskyder ligevægtene mod venstre, hvorved der dannes CO_2 der ikke kommer fra aerob forbrænding af glucose. Herved kan RE blive større end 1.

Fremgangsmåde

Apparatet måler luftens procentvise indhold af hhv. O_2 og CO_2 . Start altid en måling med at aflæse indholdet af O_2 og CO_2 i ren luft. Gas analysen foretages ved udstyr der er kalibreret med kendte gas koncentrationer, hvilket er forbundet til en computer. Gas analyseren indeholder et kammer hvori luftprøver kan sprøjtes ind og analyseres. Sprøjten påsættes trevejs-hanen og luften sprøjtes ind i et moderate tempo.



Værdierne aflæses hurtigt herefter, når kurven på skærmen viser at målingen er konstant.

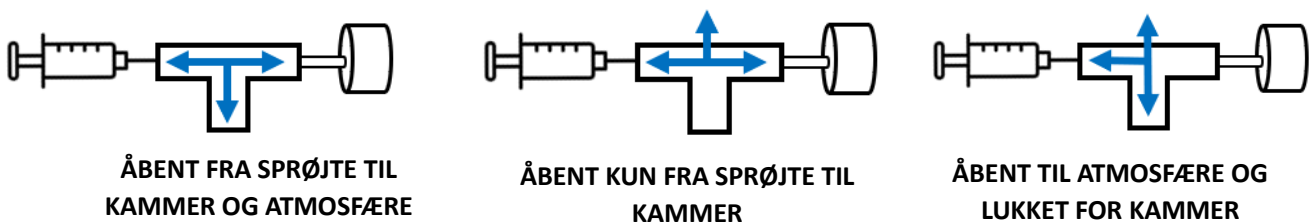
Kalibreringen foretages ved at sprøjte to kendte gasblandinger ind og indstille apparaterne på de respektive værdier. Vi anvender atmosfærisk luft (20,95% O_2 , 0,04 % CO_2) og en 5% blanding af ren CO_2 og atmosfærisk luft (19,90 % O_2 , 5,04 % CO_2).

Vigtigt: Apparatet er meget følsomt overfor fugt, så vær meget påpasselige med at undgå at få vand i sprøjten.

Måling af hvilestofskifte

Kakerlakkerne er på forhånd anbragt i termoskabe ved henholdsvis 20 og 30 °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 trevejshanen i respirationskammeret fungerer. Hanen kan drejes i flere positioner der bestemmer hvor der er kontakt mellem de tre udgange. Pilene på hanen viser hvor igennem der er åbent:



I kammeret er der anbragt 100-200g kakerlakker (denne information gives til øvelsen).

For at måle ændringen af O₂ og CO₂ i kammeret skal dyrene opholde sig et stykke tid i et lukket kammer, hvor der tages en start og en slut luftprøve.

Kammeret klargøres:

- Der sættes lukket låg på kammeret (Når der ikke måles på dyrene har de et hullet låg og konstant adgang til frisk luft)
- Der sættes en prop i hullet ved trevejshanen så kammeret er helt gastæt.

Start måling:

- En sprøjte sættes i trevejshanen
- Trevejshanen indstilles korrekt til luftprøve fra kammer
- Der udtages en 50 mL luftprøve (sørg for at prøven er opblandet ved at trække lidt luft ind og ud 2 gange inden den endelige prøve tages)
- **Stopur startes når prøven er taget!**
- Inden sprøjten tages af kammeret skal der trykudlignes. Udtræk af luft betyder at der er undertryk i sprøjte og kammer så den lille prop i kammeret skal løsnes så der høres et 'sus'.
- Proppen fæstnes derefter igen så kammeret er lufttæt.
- Kammeret lukkes ved indstilling af trevejshanen samtidigt med at sprøjten hurtigt tages ud og der sættes en finger for sprøjten.
- Gå til gasanalyatoren og analysér prøvens gas indhold.

Måling af stofskifte i hvile

Efter startprøve sættes kammeret med dyr tilbage i varmeskabet udforstyrret i ca. 40-60 min. Det behøver ikke være præcist 60 min, men stopuret giver den tid kammeret har været lukket indtil slutprøven.

Måling af stofskifte under arbejde

Efter startprøve, når kammeret lukkes (husk at starte stopuret!), anspores kakerlakkerne til at arbejde ved at dreje kammeret. Dette får dyrene til at bevæge sig og rette op på kropssposition, hvorefter kammeret straks drejes igen. På denne måde kan dyrene 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. 8-10 min. Det er vigtigt at tage slutprøven, nøjagtigt når aktiviteten stoppes.

Slut måling:

- Sprøjten sættes i trevejshanen og hanen indstilles korrekt
- Der udtages en 50 mL luftprøve (sørg for at prøven er opblandet ved at trække lidt luft ind og ud 2 gange inden den endelige prøve tages)
- **Stopur stoppes og tiden aflæses!**
- Inden sprøjten tages af kammeret skal der trykudlignes. Udtræk af luft betyder at der er undertryk i sprøjte og kammer så den lille prop i kammeret skal løsnes så der høres et 'sus'.
- Sprøjten tages ud og der sættes en finger for sprøjten.
- Der sættes hullet låg på kammeret (så dyrene har adgang til frisk luft) og kammeret sættes tilbage i varmeskabet.
- Gå til gasanalyatoren og analysér prøvens gas indhold.

Resultater

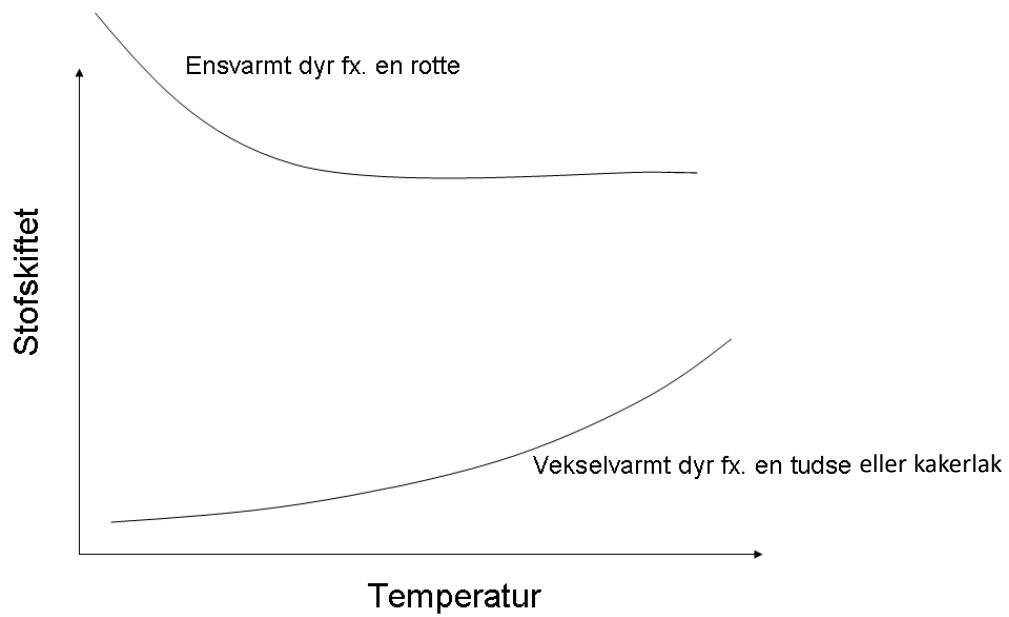
$m_{\text{kakerlakker}} =$	kg		Hvile	Aktivitet
$\Delta t_{\text{hvile}} =$	min	O ₂ (start)	%	%
$\Delta t_{\text{aktivitet}} =$	min	CO ₂ (start)	%	%
$V_{\text{kammer}} =$	mL	O ₂ (slut)	%	%
$V_{\text{kakerlakker}} =$	mL	CO ₂ (slut)	%	%

Beregn stofskiftet defineret som V_{O_2} og V_{CO_2} i hvile og aktivitet ved henholdsvis 20 og 30 °C. (For at bestemme stofskiftet, skal du kende kakerlakkernes volumen. Regn her med en densitet på 1g/mL).

Husk at V_{O_2} og V_{CO_2} angives i hhv. **mL O₂ min⁻¹ kg⁻¹** og **mL CO₂ min⁻¹ kg⁻¹**. Til beregningen skal du derfor bruge mængden af ilt i kammeret før og efter, dyrenes vægt og den præcise tid fra målingens start til slut. Iltforbruget i mL kan du beregne, hvis du kender kammerets volumen (minus dyrenes volumen!) og luftens % vise indhold af fx. O₂ før og efter.

Diskussion

- Sammenlign jeres tal for kakerlakkernes 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 kakerlakkerne under hvile. Hvilket stof har dyrenes forbrændt?
Beregn det respiratoriske gasudvekslingsforhold, RE for kakerlakkerne 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 kakerlakkerne i hvile med et pattedyr i hvile af samme størrelse (f.eks. en lille mus). Hvorfor er kurverne så forskellige?
Ved 25 °C er rottens stofskifte ca. 10 gange højere end kakerlakkernes. 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 (vi er ikke opdaterede med den nyeste litteratur 😊)

- 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