

Kontinuierliche Messung der Assimilation und Atmung mariner Algen mittels der elektrochemischen Sauerstoffbestimmung

WINFRID SCHRAMM

Institut für Meereskunde der Universität Kiel (Botanische Abteilung)

ABSTRACT: Continuous measurement of assimilation and respiration of marine algae, employing electro-chemical oxygen determination. An apparatus is described for the continuous measurement of assimilation and respiration of marine organisms, employing the principle of electro-chemical oxygen determination. The measurement of O_2 takes place in a closed system with a stabilized membrane-covered Pt-electrode (CLARK-principle), having the following properties: The electrode gives 90 % of the full response in 14 to 16 seconds; drift over a period of a few days amounts to about 0.8 %, over a few weeks, to about 2 %. In the range from 0 to 10 mg O_2/l , the relationship between the depolarization current and O_2 -concentration is linear. The calibration curve goes through the origin. With the described assembly, variations in oxygen changes down to 0.0035 mg can be detected. An example of the usefulness of the new method is shown on the basis of assimilation and respiration measurements on the alga *Fucus vesiculosus* L.

ALLGEMEINES

Die gebräuchlichste Methode zur Bestimmung des molekular im Seewasser gelösten Sauerstoffs ist das von WINKLER (1888) beschriebene Verfahren. Bis heute kann auf diese einfache und exakte Methode bei der Untersuchung des Gaswechsels mariner Organismen nicht verzichtet werden. Ein wesentlicher Nachteil besteht allerdings darin, daß auf diese Weise besonders kurzfristige Veränderungen in der Menge des gelösten Sauerstoffs nicht kontinuierlich erfaßt werden können.

Für eigene Untersuchungen zur Austrocknungs- und Temperaturresistenz mariner Algen¹ waren bei der Wahl einer geeigneten Methode neben der Forderung nach der Kontinuität der Messung vor allem folgende Gesichtspunkte maßgebend: (1) Spezifität der Messung für O_2 ; (2) Messung in Meerwasser; (3) Hohe Empfindlichkeit und großes zeitliches Auflösungsvermögen; (4) Registrierbarkeit mittels Schreiber; (5) Geringe Anzeigeverzögerung; (6) Technische Eignung für Serienuntersuchungen.

¹ Die im Rahmen einer Dissertation durchgeführten Untersuchungen stehen vor ihrem Abschluß.

Unter den bisher gebräuchlichen, kontinuierlich arbeitenden Möglichkeiten (EGLE 1960, SIMONIS 1960, MÜLLER 1958) erschien uns das Verfahren zur elektrochemischen O_2 -Bestimmung für die geplanten speziellen Untersuchungen am geeignetsten.

Das außerordentlich genau arbeitende polarographische Verfahren zur Sauerstoffbestimmung in Elektrolyten mittels der von HEYROVSKY (1922) eingeführten Hg-Tropfelektrode hat den Nachteil, daß es sehr empfindlich gegen Erschütterungen ist. Außerdem besteht die Gefahr, daß das Untersuchungsobjekt mit dem Quecksilber der Tropfelektrode in Berührung kommt.

TÖDT (1929, 1952, 1958) und seine Mitarbeiter sowie OHLE (1953) und andere verwendete Anordnungen, bei denen nach dem Prinzip der inneren Elektrolyse eine Edelmetallelektrode durch den im Versuchswasser gelösten Sauerstoff depolarisiert wird. Für zahlreiche biologische Untersuchungen hat sich vor allem dieses Verfahren durchgesetzt und vielfach bewährt (Zusammenfassungen bei TÖDT 1958, MÜLLER 1958). Allerdings weisen diese Meßeinrichtungen (z. B. TÖDT 1958, „Bioflux“) erhebliche Nachteile auf. Die frei in der zu messenden Lösung stehenden Elektroden reagieren außerordentlich empfindlich auf Änderungen der Turbulenzverhältnisse. Weiter ändert sich mit verschiedenem Elektrolytgehalt die Leitfähigkeit und damit der Depolarisationsstrom (OHLE 1953, AMBÜHL 1958). Bei Messungen im Meerwasser belegt sich die Kathode außerdem mit Spurenmetallen und Erdalkali-Hydroxyden beziehungsweise -Karbonaten. Die Folge davon ist ein unkontrollierbares Absinken des Depolarisationsstromes (GRASSHOFF 1962b).

Für Untersuchungen, wie sie hier geplant waren, erwiesen sich diese Verfahren also als nicht geeignet. Es wurde daher eine von CLARK (1953) angegebene, von KANWISHER (1959) zuerst für biologische Untersuchungen angewendete und von GLEICHMANN & LÜBBERS (1960) verbesserte Meßanordnung verwendet, bei der das Elektrodensystem und der Elektrolyt von dem zu messenden Medium durch eine dünne Membran elektrisch abgetrennt wird. Der Elektrodenaufbau wurde von GRASSHOFF (1962b) übernommen und im Verlaufe der Arbeiten für die notwendigen Anforderungen geringfügig abgeändert und verbessert. Die Entwicklung der Apparatur wurde von Herrn Dr. GRASSHOFF, Kiel, durch wertvolle Ratschläge und Überlassung von Hilfsmitteln großzügig unterstützt, wofür bestens gedankt sei.

Als besonders nachteilig erwies sich auch die in den meisten früheren Anordnungen schwierige Zugänglichkeit des Assimilationsraumes. Bei der Konstruktion der neuen Apparatur wurde daher vor allem Wert gelegt auf die Möglichkeit zur ungehinderten, schnellen Einbringung verschiedenartiger Untersuchungsobjekte.

PRINZIP DER METHODE UND THEORETISCHE GRUNDLAGEN

Der polarographische Meßkreis (Abb. 1) besteht aus einer Spannungsquelle (1), mit der eine Spannung an die Meßzelle (2) gelegt werden kann. In der Meßzelle tauchen eine Pt- und eine Ag-Elektrode (3, 4) in einen Elektrolyten (0,2 n KOH) ein (5). Von dem zu messenden Medium ist diese Anordnung durch eine dünne, wasserabstoßende Membran (Lupolen BASF, 20 μ) getrennt (6). Zwischen dieser Membran und

der Platinelektrode liegt eine $12\ \mu$ starke Cellophanfolie (7). Diese hydrophile Zwischenschicht dient zur Ausbildung einer definierten, elektrolytführenden Zone.

Legt man in diesem Elektrodensystem eine geringe negative Spannung an die Pt-Elektrode und registriert den fließenden Strom, so ergibt sich eine Stromspannungskurve, wie sie in Abbildung 2 dargestellt ist. Ein Teil der aus der zu messenden Lösung durch die Membran hindurchdiffundierenden Sauerstoffmoleküle wird an der

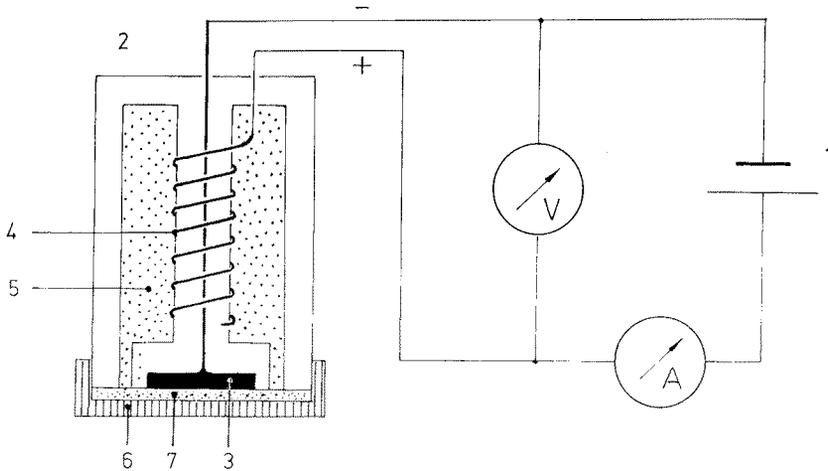


Abb. 1: Schema der Meßanordnung zur elektrochemischen O_2 -Bestimmung. 1 Spannungsquelle, 2 polarographische Meßzelle, 3 Pt-Kathode, 4 Ag-Ag₂O-Anode, 5 Elektrolytraum, 6 Lupolenfolie, 7 Cellophan

polarisierten Platinelektrode durch Anlagerung von Elektronen zu H_2O_2 und durch zwei weitere zu H_2O reduziert. Nach WINKELMANN (1956) lassen sich die Vorgänge in folgender Form zusammenfassen:



Bei Erhöhung der angelegten Spannung steigt dieser Reduktions- oder Diffusionsstrom soweit an (Abb. 2, Bereich a), bis sämtliche an die Elektroden-Oberfläche herandiffundierenden O_2 -Moleküle reduziert werden, das heißt die Sauerstoff-Konzentration ist an der Platinelektrode gleich Null. Eine weitere Erhöhung der angelegten Spannung hat keinen Einfluß mehr auf die Stromstärke. Der jetzt fließende sogenannte Diffusionsgrenzstrom (Bereich b) erhöht sich nur durch zusätzlich herandiffundierenden Sauerstoff; er ist dem pO_2 in der zu messenden Lösung proportional. Erst bei weiterer Erhöhung der Spannung (Bereich c) steigt der Strom weiter an. Es liegen jetzt andere stromliefernde elektrochemische Abläufe vor.

Da der Depolarisationsstrom diffusionskontrolliert ist, andererseits eine gleichmäßige Heranführung von O_2 -Molekeln aus der weiteren Umgebung der Pt-Elektrode kaum möglich ist, ist es notwendig, die Diffusionsvorgänge auf eine wohldefinierte Zone zu beschränken. Dies wurde von GLEICHMANN & LÜBBERS (1960) erreicht, indem

zwischen der zum Außenmedium abgrenzenden Membran und der Pt-Elektrode eine hydrophile, elektrolytführende Zwischenschicht durch Einlegen einer Cellophanfolie geschaffen wurde. Ein Rührmagnet unterhalb der Meßzelle sorgt für eine so große Turbulenz, daß an der Membranaußenfläche stets der gleiche pO_2 herrscht wie in dem gesamten Versuchswasser (GLEICHMANN & LÜBBERS 1960, GRASSHOFF 1962b).

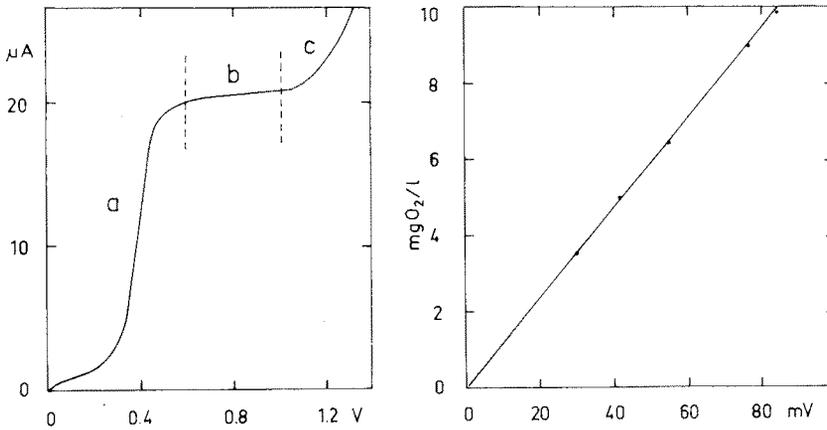


Abb. 2: Polarogramm für Sauerstoff (Luft, 18° C)

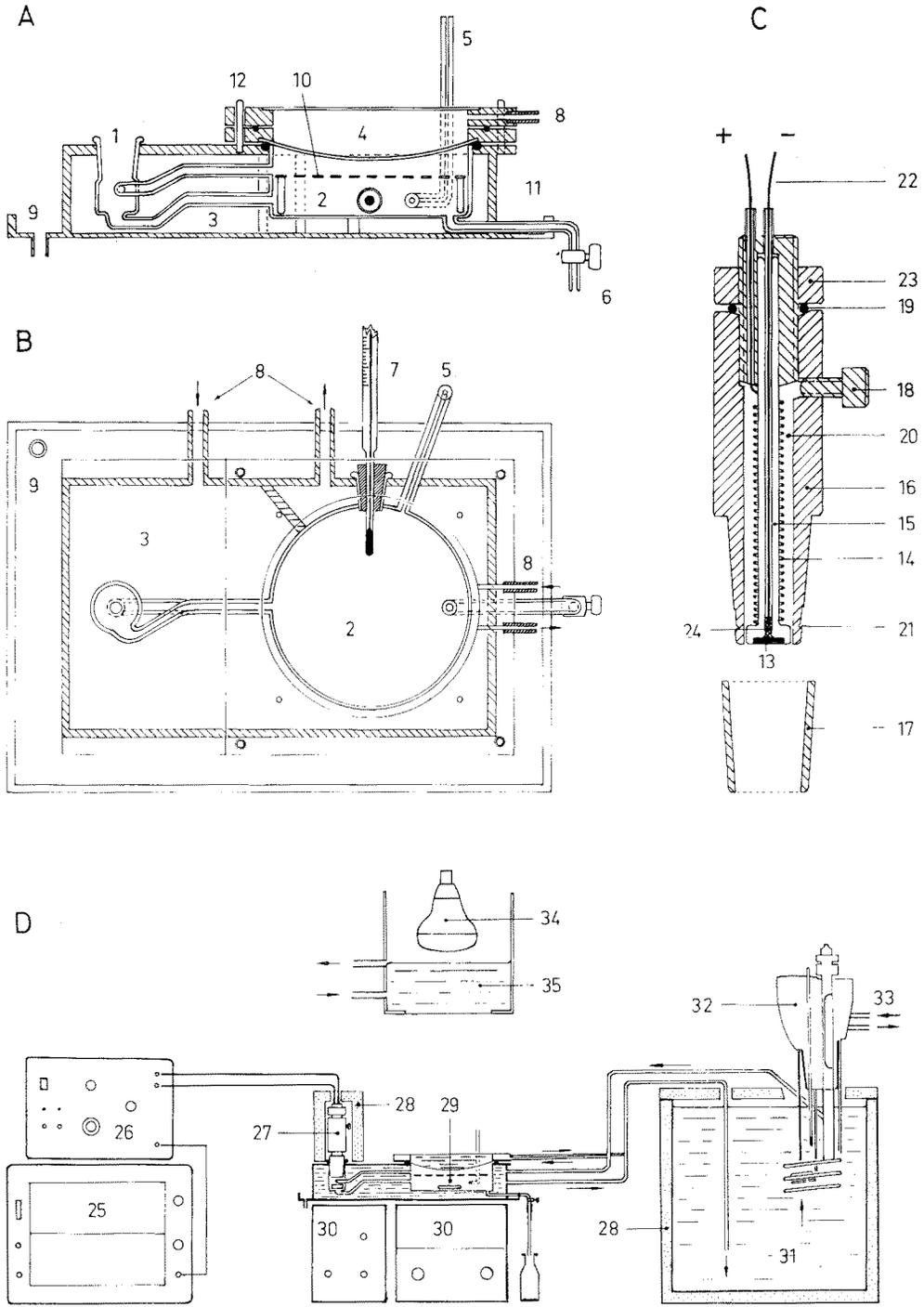
Abb. 3: Darstellung der Eichkurve für O_2 (bei 15° C, in Seewasser von 15 ‰ S)

BESCHREIBUNG DER MESSAPPARATUR

Aus Gründen der Meßgenauigkeit wählten wir ein geschlossenes System. Mit Hilfe der polarographischen Meßzelle wird in einem abgeschlossenen Volumen der Zuwachs an photosynthetisch erzeugtem beziehungsweise die Abnahme des durch Atmung verbrauchten Sauerstoffs registriert.

Um ein fehlerfreies und sauberes Arbeiten zu gewährleisten, wurde das eigentliche Kernstück der Meßapparatur, die Assimilationskammer (Abb. 5 A, B), soweit wie möglich aus Glas angefertigt. Die Verwendung von Glas hat folgende Vorteile (siehe auch GLEICHMANN & LÜBBERS 1960): (1) Durchsichtigkeit, (2) chemische Indifferenz, (3) gute Reinhaltungsmöglichkeiten, (4) Unlöslichkeit für Gase, (5) relativ gute Wärme-

Abb. 5 A, B: Assimilationskammer (A Längsschnitt, B Aufsicht). 1 Elektrodengefäß und Umwälzpumpe, 2 Assimilationszelle, 3 Kühlmantel, 4 Hohldeckel, 5 Druckausgleich, 6 Ablauf, 7 Kontrollthermometer, 8 Zu- und Abflußstutzen, 9 Überlauf und Abfluß, 10 Objektträger, 11 Weichgummidichtung, 12 Führungsstifte für den Hohldeckel. C: Meßzelle (Schnitt). 13 Pt-Kathode, 14 Ag-Ag₂O-Anode, 15 Elektrodenträger (Glas), 16 Mantel (PVC), 17 Konushülse (PVC), 18 Schraubventil (PVC), 19 O-Ringdichtung, 20 Elektrolytraum, 21 Rille für die Befestigung der Folien, 22 elektrische Ableitungen, 23 Kontermutter (PVC), 24 Hg-Kontakt. D: Schema der Versuchsanordnung. 25 Schreiber, 26 O_2 -Elektroden-Schaltteil, 27 polarographische Meßzelle, 28 Styropor-Isolierung, 29 Assimilationskammer, 30 Magnet-rührer, 31 Temperaturbad, 32 Thermostat, 33 Gegenkühlung, 34 Lichtquelle, 35 Wärmefilter



leitfähigkeit. Bei Verwendung von zunächst aus Plexiglas angefertigten Kammern konnten keine brauchbaren Ergebnisse erzielt werden.

Ähnliche Beobachtungen machten auch SEVERINGHAUS & BRADLEY (1958) und ROTH, SJÖSTEDT & CALLIGARA (1960). Je nach Sorte und Alterungsgrad löst sich O_2 in Plexiglas in verschieden starkem Maße (BARBEY 1953), so daß unkontrollierbare Meßfehler auftreten können. Außerdem setzen sich besonders leicht Verunreinigungen in Kratzspuren fest, die sich bei häufigem Gebrauch einer aus Plexiglas angefertigten Apparatur nicht vermeiden lassen. Ein weiterer wesentlicher Nachteil liegt in der außerordentlich schlechten Wärmeleitfähigkeit des Plexiglases.

Das zu untersuchende Objekt liegt in einer gläsernen (Jenaer Geräteglas) Assimilationskammer (Abb. 5 A [2]) ($h = 3,3$; $\varnothing = 11,0$; Wandstärke = 0,2 cm) von 307 ml Inhalt auf einem biegsamen, durchlöcherten Zelluloidträger (Abb. 5 A [10]). Diese Zelle kann mit einem Hohldeckel (4) in kürzester Zeit verschlossen werden. Die Dichtung erfolgt durch einen Weichgummiring (11). Um beim Schließen keine störenden Luftblasen zu erhalten, ist die gläserne Innenseite des Deckels nach außen gewölbt. Der für das Schließen des Deckels notwendige Druckausgleich erfolgt über eine seitlich in die Wandung der Kammer eingesetzte Kapillare (5). In zwei weiteren Bohrungen sind ein Abfluß (6), über den auch die Proben für die Eichung durch Winkler-Bestimmungen abgelassen wurden, sowie ein 14er-Schliff zur Aufnahme eines $1/10^0$ -C-Kontrollthermometers (7) eingekittet. Da sich bei ersten Versuchen ergab, daß bei einer direkt in die Assimilationskammer reichenden Meßzelle durch Druckschwankungen, Turbulenzänderungen, Lichteinflüsse² etc. keine ungestörten Messungen möglich waren, wurde von der eigentlichen Assimilationskammer ein gesondertes Elektrodengefäß abgesetzt (1).

Eine eigens entwickelte Ganzglas-Zentrifugalpumpe in Form eines dicht unter der Meßzelle rotierenden Ringmagneten (etwa 2000 U/min), angetrieben durch einen regelbaren kleinen Magnetrührer (30) sorgt für eine gleichmäßige, ruhige und kräftige Umwälzung (etwa 0,3 l/min).

Es zeigten sich keine elektrischen Störeffekte durch das starke, rotierende Magnetfeld. Zusammen mit einem in der Assimilationszelle unterhalb des Objektträgers laufenden Rührmagneten (angetrieben durch einen CENCO-Magnetrührer [30], etwa 250 U/min) sorgt die Pumpe für eine rasche und kräftige Durchmischung des Versuchswassers. Die Verzögerung der Messung durch die räumliche Abtrennung der Elektrode von der Assimilationszelle konnte dabei völlig vernachlässigt werden.

AUFBAU UND INBETRIEBNAHME DER MESSZELLE

In einen Mantel aus PVC (Abb. 5 C [16]) ist ein Träger (15) aus dem gleichen Material eingeschraubt, der die Anode (14) aus Feinsilberdraht ($\varnothing = 1,0$ mm) trägt.

² Nach mündlicher Mitteilung von JANKOWSKY (Zoologisches Institut der Universität Kiel) können besonders bei Verwendung von KCl-Lösungen als Elektrolyt erhebliche Störeffekte durch Licht auftreten. Wir selbst konnten solche nur nach längerem Gebrauch der Elektrode feststellen.

Die Pt-Elektrode (13) (\varnothing 8,0 mm; Stärke 2,0 mm) mit einer angelöteten Zuleitung (22) aus Ag-Draht ist mit einem 2-Komponenten-Kleber in die Stirnseite des Trägers eingeklebt. Da sich bei längerem Gebrauch an dieser Stelle oft feine Haarrisse zwischen PVC und Kleber bildeten, die zu starken elektrischen Störungen führten (Elementbildung zwischen Lötzinn und Ag), wurde in einer weiterentwickelten Ausführung der PVC-Träger durch einen Glasstempel ersetzt, in den eine 2 mm starke Pt-Scheibe eingeschmolzen war (Zuleitung über einen Pt-Draht und Hg-Kontakt [24]). Sämtliche Glasarbeiten wurden von der Firma Gohla, Kiel, ausgeführt.

Die Dichtung an der Verschraubung erfolgt mittels einer PVC-Kontermutter (23) und O-Ring (19). Seitlich in dem Mantel befindet sich ein Schraubventil (18) zur Entlüftung und zum Druckausgleich.

Als Elektrolyt wird eine 0,2 n KOH-Lösung verwendet (GRASSHOFF 1962b), die vor dem Einfüllen sorgfältig in einem Wasserstrahlvakuum zu entgasen ist. Vor der Inbetriebnahme der Meßzelle muß die Pt-Kathode sorgfältig poliert und gereinigt werden. Erst danach kann sie mit einer 12 μ starken Cellophan-Folie überzogen werden, die zuvor in aqua destillata eingeweicht wird. Eine 20 μ starke Lupolen-Folie (BASF) – mittels eines O-Ringes am konischen Vorderteil des Mantels befestigt – schließt den Elektrolytraum vom Außenmedium ab.

Die genau in den Schliff des Elektrodengefäßes passende Konushülse (17) wird vor dem Aufsetzen auf den Vorderteil des Mantels innen mit Wollfett eingestrichen, um eine elektrische Isolierung des Elektrolytraumes gegen das Außenmedium zu sichern.

TEMPERATURREGELUNG

Wie weiter oben ausgeführt, ist der Depolarisationsstrom diffusionskontrolliert und damit in weitem Maße temperaturabhängig. Es muß daher ganz besonders auf die Einhaltung einer möglichst konstanten Arbeitstemperatur Wert gelegt werden. Assimilationskammer und Elektrodengefäß sind deshalb völlig mit einem aus Plexiglas gefertigten Kühlmantel umgeben. In diesen wird aus einem gut isolierten, 15 l fassenden Thermostatenbad (Abb. 5 D [31]) ständig ein kräftiger Wasserstrom geleitet. Ebenso wird der hohle Verschlußdeckel der Assimilationskammer von dem Kühlmittel durchströmt.

Die Temperaturregelung erfolgte mittels eines in das Bad eingehängten Tauchthermostaten (Braun-Melungen; Regelgenauigkeit $\pm 0,01^\circ$ C). Aus einem Kühlaggregat wurde zur Gegenkühlung (Abb. 5 C [33]) auf 5° bis 10° C temperiertes Kühlmittel durch die Kühlschlange des Thermostaten gepumpt. Sämtliche Zuleitungen waren mit Schaumgummischlauch isoliert.

Auf Grund des relativ großen Badvolumens von 15 l, guter Isolierung, sorgfältig abgestimmter Gegenkühlung und rascher Umwälzung, lagen die temperaturbedingten Schwankungen unterhalb der Ablesegenauigkeit des Meßinstrumentes, betrug also weniger als $\pm 0,05$ mV. Das entspricht bei der verwendeten Elektrodenanordnung einer rechnerisch ermittelten Temperaturkonstanz von etwa $\pm 0,005^\circ$ C.

REGISTRIERUNG

Als Meßinstrumente eignen sich möglichst niederohmige und empfindliche Amperemeter (Nanoampèremeter). Da uns für die pO_2 -Messung kein entsprechend empfindliches Strommeßgerät zur Verfügung stand, wurde mit einem Kompensationschreiber (Compocorder Model CC-03, TOA-Electronics Ltd., Tokio, Japan) der Spannungsabfall über $5\text{ k}\Omega$ registriert. Die zugehörige Schaltung ist in Abbildung 4 dargestellt. Als Spannungsquelle für die O_2 -Elektrode diente ein Ni-Cd-Akkumulator (1,2 V; 7,5 Ah).

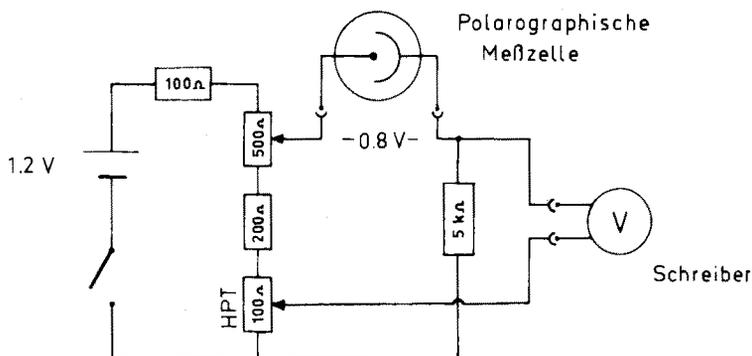


Abb. 4: Schaltung für Spannungsmessung

Um für jeden pO_2 im empfindlichsten Bereich des Schreibers (5 mV) messen zu können, war es mittels eines Präzisionspotentiometers möglich, den Nullpunkt entsprechend zu verschieben.

LICHTQUELLE

Als künstliche Lichtquelle (Abb. 5 D [34]) wurde eine Photoleuchte (Osram-Nitraphot BR, 250 V/500 W) verwendet. Bei einem Abstand von 47 cm vom Untersuchungsobjekt betrug die Beleuchtungsstärke etwa 10 000 Lux.

Zur Schwächung der intensiven Wärmestrahlung war zwischen Lampe und Assimilationskammer eine 10 cm dicke Kühlwasserschicht angebracht worden (Abb. 5 D [35]).

EICHUNG

Die Eichung der Elektrode erfolgte in der Assimilationskammer bei Versuchsbedingungen. Nach Einstellen einer konstanten Anzeige wurde das Versuchswasser über den Ablauf in 50-ml-Flaschen abgelassen und der Sauerstoff chemisch-analytisch nach WINKLER bestimmt. Durch Einleiten von N_2 konnte der O_2 -Gehalt des Wassers in Stufen herabgesetzt, beziehungsweise durch Einleiten von O_2 heraufgesetzt werden.

Bei einwandfreier Funktion ergibt sich stets eine lineare Beziehung zwischen O_2 -Gehalt und Diffusionsstrom in dem untersuchten Bereich zwischen 0 und 10 mg O_2/l . Außerdem schneidet die Eichkurve den 0-Punkt (Abb. 3). Ist die lineare Beziehung einmal festgestellt, genügt es, einen sicheren Eichpunkt zu bestimmen. Bei den laufenden Kontrollmessungen zur Überprüfung der Drift der Elektrode begnügten wir uns daher meistens mit der Messung des Wertes für Luft bei 15° C oder für etwa luftgesättigtes Seewasser (15 ‰ S, 15° C) (siehe auch TÖDT 1958, KANWISHER 1959). Die absolute Genauigkeit der Eichung wird durch die Genauigkeit der Winkler-Methode begrenzt (GRASSHOFF 1962a: Standardabweichung der Winkler-Methode $\pm 0,62$ ‰ vom Mittelwert).

LEISTUNGSFÄHIGKEIT DER METHODE UND FEHLERMÖGLICHKEITEN

Die relative Meßgenauigkeit wird im wesentlichen durch das Meßinstrument bestimmt. Bei 0,1 mV Ablesegenauigkeit lassen sich mit unserer Meßanordnung und bei unseren Versuchsbedingungen (15° C, 15 ‰ S) Sauerstoffänderungen von etwa 0,0035 mg O_2 erfassen.

Die Bestimmung der Temperaturabhängigkeit des Diffusionsstromes ergab für 1° C Temperaturerhöhung eine Erhöhung der Anzeige um 5 bis 7 ‰. Sie kann bei der von uns erreichten Temperaturkonstanz ($t \pm 0,005^\circ$ C) vernachlässigt werden.

Zu den der Methode der elektrochemischen O_2 -Bestimmung anhaftenden Fehlern gehört die Drift der Elektrode (TÖDT 1958, GRASSHOFF 1962b). Die relative Schwankung über Tage wird von GRASSHOFF mit 0,8 ‰ angegeben. Über einen Zeitraum von 4 Wochen betrug bei unseren eigenen Messungen die maximale Abweichung vom Mittelwert etwa 2 ‰. Für die Einzelmessung ist die Drift zu vernachlässigen.

Ebenso kann der O_2 -Eigenverbrauch der Elektrode bei der Größe des verwendeten Wasservolumens (307 ml) unberücksichtigt bleiben (GLEICHMANN & LÜBBERS 1960).

Verfälschungen der Anzeige auf Grund der Einstellzeit (etwa 14 bis 16 sec bis zum Erreichen von 90 ‰ der O_2 -Änderung) sind nur bei sprunghaften pO_2 -Änderungen von Bedeutung (GRASSHOFF 1962b). Weitere ausführliche Angaben zu den systematischen Fehlern der elektrochemischen Sauerstoffbestimmung finden sich bei TÖDT (1958), GLEICHMANN & LÜBBERS (1960), GRASSHOFF (1962b), KOYAMA (1965). Im folgenden sollen nur die Fehlermöglichkeiten für die von uns verwendete spezielle Versuchsanordnung erörtert werden.

Die Brauchbarkeit und Exaktheit der Methode ist in weitem Maße von der Einhaltung der Versuchstemperatur abhängig. Abweichungen können zu Verfälschungen der O_2 -Messungen führen. So kommt es besonders bei größeren Unterschieden zwischen der Raumtemperatur und der des Versuchswassers während des Öffnens der Assimilationskammer und beim Einlegen des Untersuchungsobjektes zu kurzfristigen Veränderungen der Anzeige um etwa $\pm 0,2$ bis 0,5 mV. Dies ist in erster Linie auf eine geringfügige Erhöhung oder Erniedrigung der Versuchstemperatur zurückzuführen. Die Rückregelung erfolgt in 1 bis 2 min. Dieser Fehler wird weitgehend vermieden, wenn die Temperaturen des Versuchswassers, des Raumes und besonders des Untersuchungsmaterials möglichst wenig voneinander abweichen.

Eine weitere Ursache für plötzliche Veränderungen der Anzeige beim Öffnen der Assimilationszelle kann die zusätzliche Lösung von Luftsauerstoff im beziehungsweise das Herausdiffundieren von O_2 aus dem Versuchswasser sein. Da im allgemeinen jedoch im Bereich der Luftsättigungswerte gearbeitet wurde, blieb dieser Fehler nur sehr gering. Außerdem hat er keinen Einfluß auf den Meßvorgang.

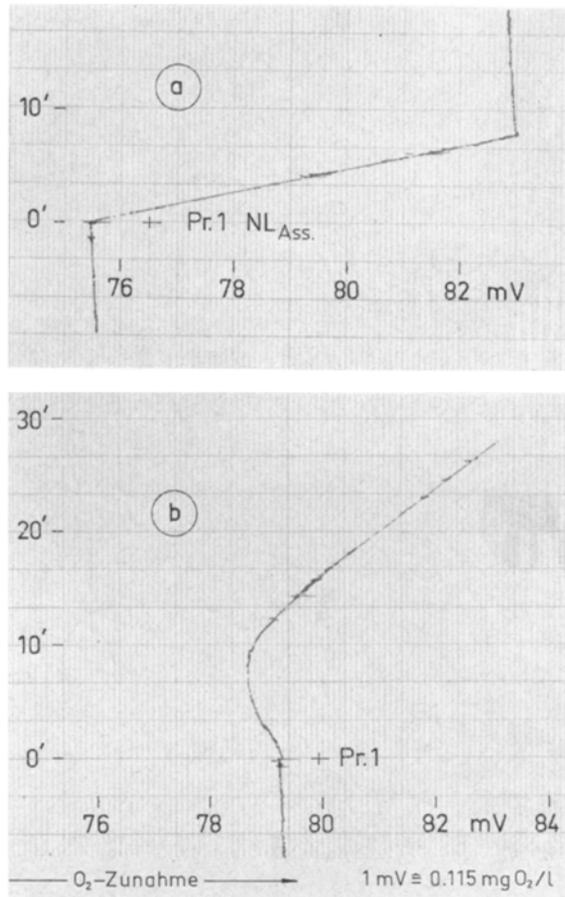


Abb. 6: Originalregistrierung der Assimilation von *Fucus vesiculosus* (10 000 lx, 15° C, Ostseewasser von 15 ‰ S). (a) Assimilationsgrundleistung, (b) Assimilation beim Wiedereinquellen nach Austrocknung auf 25 % des Sättigungsgewichtes. Ordinate: Zeit in Minuten; Abzisse: O₂-Konzentrationsänderung in mV

ANWENDUNGSBEISPIELE UND DISKUSSION DES VERFAHRENS

Bei den von uns durchgeführten Untersuchungen zur Austrocknungs- und Temperaturresistenz mariner Algen wurde besonders auf den Verlauf der Reaktivierung von Assimilation und Atmung beim Wiedereinquellen Wert gelegt. Die zuvor verschieden

stark entquollenen Algenproben wurden zu diesem Zweck nach einer kurzen Adaptionszeit an die bei der Messung herrschenden Licht- und Temperaturverhältnisse direkt in die Assimilationskammer überführt.

In Abbildung 6 sind Originalregistrierungen der Assimilations-Grundleistung ($NL_{Ass.}$) von *Fucus vesiculosus* L. und des Assimilationsverlaufes beim Wiedereinquellen nach vorheriger Austrocknung auf 25 % des Sättigungsgewichtes wiedergegeben. Die Messungen erfolgten bei 10 000 lx und 15° C in Ostseewasser von 15 ‰ S.

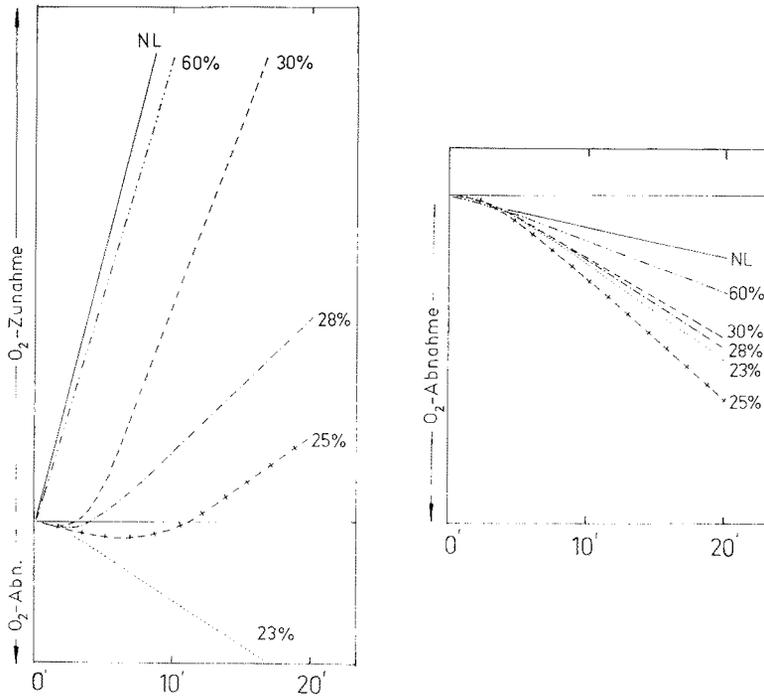


Abb. 7: Assimilation und Atmung beim Wiedereinquellen nach verschieden starker Entquellung (in % des Sättigungsgewichtes) bei 15° C in Ostseewasser von 15 ‰ S). Links: Assimilation (10 000 lx); rechts: Dunkelatmung. Ordinate: O₂-Konzentrationsänderung; Abzisse: Quellzeit in Minuten; NL: mittlere Grundleistung

Die Geradlinigkeit des Kurvenverlaufs bei der Bestimmung der Grundleistung beweist, daß die geringfügigen O₂-Konzentrationsänderungen (5 bis 10 % des Sättigungswertes) während der 10- bis 30minütigen Messungen ohne Einfluß auf die Assimilation oder Atmung bleiben. Die Steigung der Kurven ist ein Maß für die Gaswechselintensität, die in ihren absoluten Werten bei bekannter Materialmenge leicht anhand der Eichkurven ermittelt werden können.

Bei vergleichenden Untersuchungen an verschiedenem Material wurden die Originalregistrierungen auf einheitliches Sättigungsgewicht oder mittlere Grundleistung (= NL) korrigiert. Abbildung 7 zeigt die Zeitkurven der Assimilation und

Atmung für *Fucus vesiculosus* nach verschieden starker Entquellung. Während der Atmungsmessungen wurde die Assimilationskammer mit einem schwarzen Tuch abgedeckt.

Die Ergebnisse zeigen deutlich eine mit dem Austrocknungsgrad zunehmende anfängliche Depression der Assimilation, die nach starker Entquellung (23 0/0 des Sättigungsgewichts) erst nach Stunden überwunden wird. Die Atmung beim Wiedereinquellen erfährt dagegen mit zunehmenden Wasserverlusten eine Steigerung. Diese geht nach starker Entquellung (23 0/0) wieder zurück. Nach extremer Austrocknung kann der Sauerstoffverbrauch sogar unter der Normalleistung liegen.

Der Vorteil der Meßanordnung besteht in erster Linie in der Möglichkeit, den Verlauf geringer Sauerstoffänderungen unmittelbar nach dem Einbringen des Untersuchungsmaterials in die Apparatur kontinuierlich zu messen. Die Konstruktion der Assimilationskammer gestattet es, den O₂-Gaswechsel verschiedenartigster pflanzlicher oder tierischer Objekte zu verfolgen. Daneben lassen sich ohne Schwierigkeiten die Versuchsbedingungen (Licht, Temperatur, Medium) in weiten Grenzen variieren.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Eine Apparatur zur kontinuierlichen Messung von Assimilation und Atmung mariner Organismen nach dem Prinzip der elektrochemischen Sauerstoffbestimmung wird beschrieben.
2. Die O₂-Messung erfolgt in einem geschlossenen System mittels einer stabilisierten, membranüberzogenen Pt-Elektrode (CLARK-Prinzip) mit folgenden Eigenschaften: Die Einstellzeit auf 90 0/0 des Endwertes beträgt 14 bis 16 sec; die Drift liegt über Tage bei 0,8 0/0, über Wochen bei 2 0/0. Im Bereich von 0 bis 10 mg O₂/l ist die Beziehung zwischen Depolarisationsstrom und O₂-Konzentration linear. Die Eichkurve schneidet den Nullpunkt.
3. Mit der beschriebenen Anordnung können Sauerstoffänderungen von 0,0035 mg O₂ erfaßt werden. Es werden Beispiele für die Anwendung von Assimilations- und Atmungsmessungen an der Braunalge *Fucus vesiculosus* L. angeführt.

Die Untersuchungen wurden im Institut für Meereskunde der Universität Kiel, Botanische Abteilung, auf Anregung und unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. F. GESSNER durchgeführt. Die Arbeiten wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert.

ZITIERTE LITERATUR

- AMBÜHL, H., 1958. Die praktische Anwendung der elektrochemischen Sauerstoffbestimmung im Wasser. *Schweiz. Z. Hydrol.* **20**, 341–359.
- BARBEY, K., 1953. Sauerstoffversorgung und Sauerstoffverbrauch des Froschherzens in Ruhe. Kiel, Med. Diss. v. 24. 2. 1954, 25 Bl.
- CLARK, L. C., WOLF, R., GRANGER, D. & TAYLOR, A., 1953. Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. *J. appl. Physiol.* **6**, 189–193.
- EGLER, K., 1960. Landpflanzen. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie. Hrsg. von Wilhelm Ruhland (u. a.). Springer, Berlin, **5**, 115–163.

- FØYN, E., 1955. Continuous oxygen recording in sea water. *FiskDir. Skr.* (Ser. Havunders.) **11** (3), 1–8.
- GLEICHMANN, U. & LÜBBERS, D. W., 1960. Die Messung der Sauerstoffdrucke in Gasen und Flüssigkeiten mit der Platinelektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **271**, 431–455.
- GRASSHOFF, K., 1962a. Untersuchungen über die Sauerstoffbestimmung im Meerwasser. T. 1. *Kieler Meeresforsch.* **18**, 42–50.
- 1962b. Untersuchungen über die Sauerstoffbestimmung im Meerwasser. T. 2. *Kieler Meeresforsch.* **18**, 151–160.
- 1963. Untersuchungen über die Sauerstoffbestimmungen im Meerwasser. *Kieler Meeresforsch.* **19**, 8–15.
- HEYROVSKY, J., 1922. Elektrolysa se rtutovou kapkovou kathodou. *Chemické Listy* **16**, 256.
- 1948. Polarographisches Praktikum. Springer, Berlin, 118 pp.
- KANWISHER, J., 1959. Polarographic oxygen electrode. *Limnol. Oceanogr.* **4**, 210–217.
- KOYAMA, T. & BRECHT, K., 1965. Ein Beitrag zur Stabilisierung der Pt-Elektrode und ihre Anwendung bei gleichzeitiger Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs und der mechanischen Aktivität des Muskels. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **286**, 181–188.
- MÜLLER, J., 1958. Über die Verwendung von Magnos-Sauerstoffschreibern für Gaswechselregistrierungen in der Biologie. *Ber. dt. bot. Ges.* **71**, 205–223.
- OHLE, W., 1953. Die chemische und elektrochemische Bestimmung des molekular gelösten Sauerstoffs der Binnengewässer. *Mitt. int. Verein. theor. angew. Limnol.* **3**, 1–44.
- ROOTH, G., SJÖSTEDT, S. & CALIGARA, F., 1960. Oxygen tension of the blood in the umbilical cord and the intervillous space. *Archs Dis. Childh.* **35**, 529–533. (Zit. nach GLEICHMANN, U. & LÜBBERS, D. W., 1960.)
- SEVERINGHAUS, J. W. & BRADLEY, A. F., 1958. Electrodes for blood pO₂- and pCO₂-determination. *J. appl. Physiol.* **13**, 515–520.
- SIMONIS, W., 1960. Wasserpflanzen. In: Handbuch der Pflanzenphysiologie. Hrsg. von Wilhelm Ruhland (u. a.). Springer, Berlin, **5**, 164–181.
- TÖDT, F., 1929. Die laufende Anzeige des Gehaltes an gelöstem Sauerstoff sowie des durch Natronlauge bewirkten Rostschutzes durch Strommessung. *Z. Ver. dt. ZuckInd.* (1929), 680–694.
- 1952. Die Messung der kathodischen Sauerstoffreduktion durch geeignete Modellelemente. *Z. Elektrochem.* **56**, 163–169.
- 1958. Elektrochemische Sauerstoffmessungen. De Gruyter, Berlin, 212 pp.
- WINKELMANN, D., 1956. Untersuchungen über das elektrochemische Verhalten von O₂-H₂O₂-H₂O an blankem und platinisiertem Platin. *Z. Elektrochem.* **60**, 731.
- WINKLER, L. W., 1888. Die Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffs. *Ber. dt. chem. Ges.* **21**, 2843–2854.