

Institutt for grønnsakdyrking

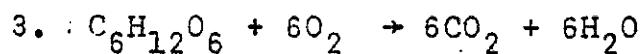
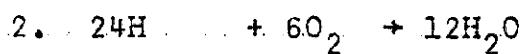
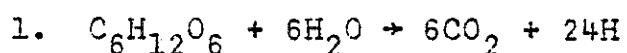
J.nr. 11/77

Ref.: Und/HH/grw

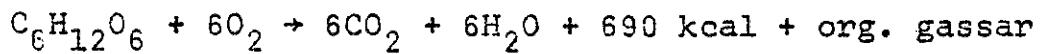
Dato 25.8.77.

METODAR FOR MÅLING AV RESPIRASJON OG LUFTSAMANSETNADERINNLEIING

Karbohydrat er utgangspunkt for andinga i dei fleste produkt. Normalt skjer det ei nedbryting til karbondioksyd og vatn ved fri-gjeving av energi slik det går fram av følgjande formel:



Det vanlege er å skriva formelen for aerob anding slik:



Nedbrytinga av karbohydrat skjer i tre fasar:

1. Mobilisering frå oligo- og polysakkarkerider til monosakkarkerider.
2. Glykolyesen (Emden-Meyerhof-Parnas og/eller pentose-syklusen) frå monosakkarkerider til pyrodruesyre.
3. Krebssyklusen (Sitronsyresyklusen), nedbryting av pyrodruesyre, CO_2 vert produsert og dehydrogenasar vert redusert, fig. 1.

I prinsippet er alle desse reaksjonane anaerobe, men det er klart at omsetninga i Krebssyklusen berre kan fungera dersom dei reduserte dehydrogenasane vert oksyderte. Dette skjer gjennom eit system med red-oxkatalysatorane der det vert produsert energirike sambindingar, ATP, og oksygen vert redusert, figur 2. Denne fasen vert kalla oksydativ fosforylering eller andingskjede. Ved nedbrytinga av 1 mol glukose til CO_2 og H_2O vert det dannar 38 mol ATP frå ADP + uorganisk P. Til samanlikning kan nemnast at ved alkoholgjæring, anaerob anding, vert eit mol hexose brote ned til 2 mol etanol + 2 mol CO_2 . Denne prosessen gir eit nettoutbyte på 2 mol ATP som tilsvarar ca. 15 kcal i fri energi.

Frå den generelle formelen på side 1, ser vi at det er mange måtar å måla andinga på, tap av sukker, oksygenopptak, karbondioksydproduksjon og varmeproduksjon. Det er likevel CO_2 -produksjon og O_2 -opp-tak som er enklast å måla. Dette kan gjerast på mange måtar. På grunn av at det er så mange metodar som vert nytta, kan det vera nyttig å gi ei viss orientering om dei vanlegaste metodane.

METODIKK VED ANDINGSMÅLING

For å kunna måla gassvekslinga i eit produkt vert det nytta 3 system: Lukka, gjennomstrøyming eller ein kombinasjon av desse.

Lukka system tyder, som namnet seier, at produktet er i eit lukka kar. I den enklaste forma vert produktet plassert i eit glas, spann eller liknande, og det vert så teke ut luftprøver etter ei viss tid. Lukka system kan også ha sirkulasjon over analyseinstrumentet, figur 3.

Den største ulempa ved denne metoden er at luftsamsetnaden i karet endrar seg med tida og kan verka på andingsintensiteten dersom forsøket går over lengre tid. Denne endringa i luftsamsetnaden kan ein unngå ved å ha tilleggsutstyr. Dette vert omtala seinare.

Gjennomstrøyming vil seia at ein luftstraum passerar produktet kontinuerleg, og andinga kan målast når ein ynskjer det utan å foreta inngripande endring i systemet. Luftgjennomgangen må vera kjent og konstant.

Konstant luftgjennomgang kan ein regulera ved hjelp av ein barostat. Ofte er dette eit kar med vatn som ein leier ei grein av lufttilføringa ned i. Når dette røyret vert stilt på eit visst nivå, og det går litt luft gjennom, vil denne kompensera for endringar i det atmosfæriske trykket. Meir raffinerte system er også i bruk.

Luftgjennomgangen regulerar ein best ved bruk av kapillarer. Desse må kalibrerast ved det trykket ein nyttar i forsøket. Den mest einfelde metoden å måla luftgjennomgangen på er å måla kor lang tid ei såpeboble treng for å passera eit visst volum. Stoppe-

klokke er turvande til dette. Elles vert det også nytta kalibrerte apparat der ein flottør viser kor stor gjennomstrøyminga er. Endelig er det også ein kombinasjon av lukka og gjennomstrøymingssystemet. I dette systemet er også lufta i stadig rørsle, men medan analysen pågår ver lufta pumpa rundt i eit lukka system. Den største ulempa ved dette systemet er at kvart kar må ha ei pumpe.

Sperrestoff. Ved fleire analysemетодar vert det nytta eit sperrestoff anten i apparatet eller i prøvetakingsutstyret. Kravet til eit slikt stoff er at det ikkje må løysa dei gassane som skal isolerast. Det beste stoffet i så måte er kvikksølv, men kvikksølv er dyrt, og kvikksølvdamp er dessutan giftig. Til nøyaktige analyser vert kvikksølv likevel mykje nytta. Glyserol har også lita løysingsevne, men dette stoffet er lite skikka grunna høg viskositet. Kalsiumklorid (400 g/l) og magnesiumklorid (300 g/l) har også lita løysingsevne, men dei har visse ulemper. Kalsiumklorid er for viskøs, og magnesiumklorid dannar lett botnfall om det vert forurensa med alkalier. Der slik forurensing er ute-lukka, vert magnesiumklorid tilrådd. Løysingar av natriumklorid (280 g/l) og natriumsulfat (200 g/l) løysar noko meir, men har god viskositet og dannar heller ikkje botnfall. Natriumsulfat vert rekna som det beste av desse to. Ein indikator i løysinga er ynskjeleg. Vatn er uskikka til sperrestoff. Nokre opplysningar om løysingsevna åt dei nemnde stoffa er oppsett nedanfor.

Sperrestoff	cm ³ gass/cm ³ væske ved 25°C		
	O ₂	CO ₂	etylen
Vatn	0,028	0,76	0,11
Natriumsulfat 200 g/l	0,008	0,25	0,022
Natriumklorid 250 g/l	0,006	0,24	
Magnesiumklorid 300 g/l		0,15	
Kalsiumklorid 400 g/l		0,14	
Glyserol		0,028	
Kvikksølv	0	0	

Ved prøvetaking må ein elles ta omsyn til at visse komponenter av gassen kan kondenserast og at andre kan løysast i kondensatet. Av det som er sagt tidlegare, kan t.d. CO₂ verta løyst i vassdamp som vert kondensert. Lange gummislanger kan også gi feil p.g.a. diffusjon.

Oversikt over metoder for måling av CO_2 - og C_2H_4 -produksjon og av O_2 -opptak fra planter eller plantedeler.

Metode	CO_2		O_2		C_2H_4	
	lukka	gjennom- strøyming	lukka	gjennom- strøyming	lukka	gjennom- strøyming
1. Gravimetrisk		x				
2. Titrimetrisk	x	x			x	
3. Gassometrisk						
a. Volumetrisk	x		x			
b. Manometrisk	x		x		x ¹⁾	
4. Kolorimetrisk		x			x	
5. Elektrometrisk						
a. Motstand		x				
b. Varmeleidings- evne		x				
c. Infraraud absorbsjon		x				
d. Magnetisk			x	x		
e. Polarografisk			x	x		
6. Gasskromatografi	x	x	x	x	x	x
7. Biologisk						x

1) Absorbsjons ved gjennomstrøyming av C_2H_4 . Deretter vert C_2H_4 frigjeve og målt i Warburg-apparat.

ANALYSEMETODAR

Det finst ei rekke metodar å velja mellom for analyse av CO_2 , O_2 og andre gassar. Av andre gassar skal vi berre koma litt inn på etylen.

ANALYSEMETODAR FOR KARBONDIOKSYD (CO_2)

Fylgjande metodar har vore nytta til karbondioksydanalyse.

Gravimetriske. CO_2 vert absorbert i ei sterk alkalisk løysing eller absorbert på eit fast stoff som "ascarite". Løysinga eller

det faste stoffet vert vege, og differansen skuldast absorbert CO_2 . Det karbonatet som vert danna i løysinga, kan også isolerast og vegast som karbonat. Gravimetriske metodar er i prinsippet enkle, men ein må som regel ha motråder for å hindra at råme og eventuelt andre gassar verkar på resultata.

Titrimetriske. Ved denne metoden vert også CO_2 absorbert, som regel i ei svak alkalisk løysing. Ved titrering kan ein finna ut kor stor del av luten som er nøytralisert. Det finst ei rekke varianter av denne metoden i bruk. Titrimetriske metodar vert oftast nytta framfor gravimetriske. Serleg vert beinveges titrering mykje tilpassa. Titrering på klassisk maner krev mykje tid og er av den grunn heller ikkje ideell. Absorbsjonsevna vert også nedsett på grunn av at ein arbeidar med fortynna løysingar. Titrering kombinert med kolorimeter synes å by på visse moglegskapar. Dersom ein nyttar beinveges titrering av $\text{Ba}(\text{OH})_2$ med 0,1 N HCl og fenolftalin som indikator får ein

$$\text{mg CO}_2 = V \cdot N \cdot 22$$

der V = differansen i volum (ml) mellom blank og prøve

N = normalitet av HCl

22 = ekvivalentvekta av CO_2

Gassometriske omfattar to metoder: Volumetrisk og manometrisk. Ved den volumetriske les ein av volumendringane etter absorbsjon i ei sterk alkaliopløysing.

Ved den manometriske vert også CO_2 absorbert i alkaliløysingar, og frigitt i manometerflaska ved tilsetting av syre. Ein registrerer her trykkendringa.

Ved bruk av gassometriske metodar oppnår ein nøyaktige resultat ved bruk av manometer. Dei volumetriske kan også vera nøyaktige, men dette er avhengig av apparatet.

Kolometriske. CO_2 vert absorbert i ein buffer av NaOH og NaHCO_3 og ein indikator. Konsentrasjonen vert fastsett ved fargeendringa. Fargen må målast i eit kolorimeter. Denne metoden er mykje nytta, serleg i USA, men ved Institutt for grønnsakdyrkning har vi også slikt utstyr.

Elektrometriske metodar finst det fleire av. : Metodar som byggjer på visse fysiske eigenskapar der endringane kan målast elektrisk, kjem stadig meir i bruk.

Elektrolytisk motstand. Den elektrolytiske motstanden i ei alkaliisk løysing vil auka etter kvart som luten vert nøytralisert. : Motstanden er også temperaturavhengig slik at metoden krev god temperaturkontroll eller nøyaktige temperaturmålingar for korreksjon.

Varmeleiingsevna til ein gass kan også nyttast som mål på endringar i visse komponentar. : Motstandsendringane vert målte i ei Wheatstone's bru der det er innsett 2 platinatråder som vert varma opp. Over den eine går vanleg luft eller kontrolllufta, over den andre går luft frå respirasjonskammeret.

Absorbsjonsspektret til ein gass kan også nyttast til måling av konsentrasjonen. : Prinsippet er at ein sender infraraude lysstrålar gjennom 2 gassprøver. Den eine er kontrollgass, den andre den som skal analyserast. På grunn av ulik absorbsjon vert det ein temperaturskilnad som vert omsett til elektrisk energi. : Apparatet som byggjer på dette prinsippet er mykje nytta.

Gasskromatografi. I gasskromatografi utnyttar ein prinsippet at ulike gassar vert absorbert ulikt sterkt til eit anna stoff. : Sjå nærmare omtale seinare.

ANALYSEMETODAR FOR OKSYGEN (O_2)

Jamvel om interessa for å analysera oksygeninnhaldet i lufta er stor, er det ikkje så mange metodar som er uteksperimenterte.

Gassometriske metodar er dei viktigaste. : Både manometriske og volumetriske vert nytta.

Elektrometriske. Paramagnetiske og polarografiske metodar er tatt i bruk.

VAL AV METODE

Ved val av metode er det fleire faktorar som kan vera avgjerande. Det kan vera spørsmål om analyser av luftsamsetnaden ved lagring i kontrollerte atmosfærer i praktiske verksemder, eller målingar av luftsamsetnader og/eller respirasjonsintensitet i forsøk. Til forsøk er sjølvsagt nøyaktige metodar ynskjeleg, men også her kan krava variera sterkt.

Av faktorar som verkar inn på valet av analysemetode kan setjast opp følgjande:

1. Kva vil ein måla?

Registrering av CO_2 , O_2 og/eller etylen.

(Det kan også vera av interesse å måla varmeproduksjonen ved respirasjon).

2. Kva gasskonsentrasjonar skal ein arbeida med?

Til meir ein varierar konsentrasjonane av den gassen som skal målast, til vanskelegare er det å finna gode analysemetodar. Dette gjeld særleg der det i tillegg trengs nøyaktige målingar, t.d. for å kalkulera O_2 -opptak ved å måla skilnader i O_2 -innhald før og etter ei viss gassmengd passerar produktet.

3. Kor nøyaktig må metoden vera?

Produkt og produktmengde verkar inn. Dersom ein vil observera respirasjonen av einskilde frukter eller røter, som bør vera regelen i fysiologiske granskningar, trengs meir nøyaktige metodar enn om ein nyttar prøver på eit eller fleire kg. Dersom ein går over til å arbeida med delar av eit produkt må metodane vera svært nøyaktige.

4. Kor stort gassvolum har ein til rådvelde?

Det kan vera aktuelt å måla luftsamsetnaden i lagerrom, kassar, spann, forbrukarpakningar eller i intercellularrom. Einskilde instrument krev relativt store gassmengder (Oxygor 1 , ein paramagnetisk O_2 -analysator, må ha 200 ml/min) medan andre kan analysera små volum (gasskromatograf <1 ml).

5. Kor rask må metoden vera?

I forsøk er det spørsmål om kor mange ledd og gjentak ein har, og kor ofte målingane må utførast. Det er gunstig å velja ein metode der det er mogeleg å måla beinveges, dvs. utan å ta ut prøva som må overførast. Med mange prøver trengs det ein metode som er rask.

Til slutt kan det vera verd å understreka at det ikkje er grunn til å velja ein metode som er nøyaktigare enn ein har bruk for. Det ein oppnår ved det er ofte dyrare apparatur og stundom også meir arbeidskrevjande.

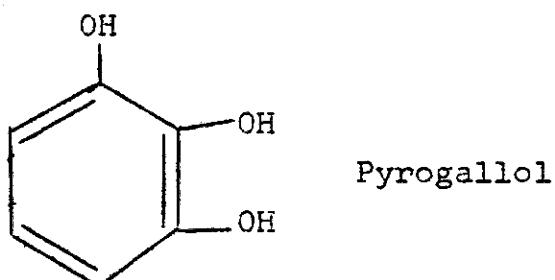
NÆRARE OMTALE AV NOKRE METODAR

Gassometriske

a. Volumetriske metodar er mykje nytta som kontrollapparat, men har også vore nytta til andingsmålingar. Tre vanlege apparat kan nemnast: Orsat (figur 4), Haldane (figur 5) og Lloyd. Alle desse apparata arbeider etter same prinsipp. Ei viss luftmengde, 10-100 ml vert teke inn i ei målebyrette. Deretter vert lufta ført over i eit absorbsjonskar for CO_2 , og attende til målebyretta der volumendringa vert avlest. Neste trinn er at lufta vert ført over i eit absorbsjonskar for O_2 , og som siste operasjon får ein avlesing i målebyretta over volumendring som skuldast både CO_2 og O_2 .

Som absorbsjonsvæske nyttar vi følgjande:

For CO_2 : 37% (9 N) KOH som absorberar i høvet 1:30, og for O_2 ei blanding av 120 ml 31% pyrogallol [Pyrogallol = 1,23 trihydroksybensen ($\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_3$)]. Andre stoff kan også nyttast] og 45 ml 53% (14,6 N) KOH. Denne blandinga absorberar O_2 i høvet 1:53.



Som sperrestoff i målebyretta vert det nytta ulike væsker. I Orsat nyttar vi 18% NaCl-oppløysing tilsett metylraudt.

Haldane og Lloyd er i prinsippet svært lik Orsatapparatet, men byrettene er mykje større slik at avlesningsfeilen vert mindre. Dessutan nyttar ein kvikksølv som sperrestoff.

Ein metode som i prinsippet er volumetrisk med omsyn til O_2 , men titrimetrisk for CO_2 bør nemnast (Magness & Diehl's metode), figur 6. Når dette systemet er sett opp, vil CO_2 som vert produsert verte absorbert av luten, og sidan O_2 vert brukt vil dette resultera i trykktap i eksikatoren. Nytt O_2 vert sugd inn frå måleglaset, og eit tilsvarende volum vatn sugd inn i måleglaset. Underkanten i kapillaret i Mariotteflaska skal stå på same nivå som spissen på utløpsrøyret i målesylinderen. Etter ei viss tid kan ein lesa av kor mykje O_2 som er brukt, og kor mykje CO_2 som er produsert. For nøyaktige målingar er det turvande å korrigera for volumendringar som skuldast endringar i temperatur og atmosfære. Til dette kan ein nytta ein eksikator utan produkt.

Ved både desse metodane vil ein kunna kalkulera RQ (CO_2 -prod./ O_2 -opptak).

b. Manometriske. Det best kjende apparatet her er Warburg. Det vert nytta svært ofte ved fysiologiske og biokjemiske studier. Dei viktigaste delene av apparatet er oppsett i figur 7. Produktet vert her plassert i Warburgkaret, i det indre romet vert det oftast plassert KOH som absorberar CO_2 . Flaska vert festa til manometeret som er gradert i mm. Manometeret har ein toppkran og nederst utstyr for regulering av manometervæska (vanleg nytta er Brodie's væske). Heile dette utstyret vert plassert på eit apparat, og Warburgkaret vert ståande i eit vassbad som har tilnærma konstant temperatur. I tillegg til dei kara som ein har materiale i, har ein alltid eit manometer utan materiale i det såkalla termobarometeret. Både vatnet i vassbadet og kara er i stadig rørsle.

Når kara har stått ei tid i vassbadet, stenger ein toppkrana og stiller manometervæska i den armen som er tilkopla karet på 15, figur 8. På den andre armen les ein så av verdien. På grunn av trykkendringar i karet vil manometervæska flytta seg, og etter visse tidsintervall stiller ein væska på ny på 15 og les av på den andre armen.

I termobarometeret kan det også verta ulike avlesingar på grunn av at det atmosfæriske trykket og/eller temperaturen endrast i forsøks-perioden. Den differansen som eventuelt vert funnen, vert nytta til korrigering av trykkendringa i forsøkskara.

For å få overført trykkendringane til volum nyttar ein formelen

$$x = k h$$

$$\text{der } x = \mu l$$

k = karkonstant (må reknast ut for kvart kar-manometerkombinasjon ved ulik vev-væskemengde)

h = korrigert trykkgifferanse i mm

$$k = \frac{Vg \cdot \frac{273}{T} + Vfa}{P_0}$$

der Vg = gassvolumet i systemet

T = temperaturen i $^{\circ}\text{K}$

Vf = volum av væske (produkt vert rekna som væske)

α = absorpsjonskoeffisient for aktuell gass pr. volum vatn

P_0 = normaltrykk (10.000 mm B.v.)

α for O_2 og CO_2 i vatn

Temp.	$\alpha \text{ O}_2$	$\alpha \text{ CO}_2$
0°C	0,049	1,713
10°C	0,038	1,194
20°C	0,031	0,878
25°C	0,029	0,759

Døme: Ein kombinasjon av kar og manometer gir eit volum *) på 18 ml. I karet er det 2,7 ml løysing ($Vf = 2700 \mu\text{l}$) og gassvolumet er 15,3 ml ($Vg = 15300 \mu\text{l}$). Temperaturen er 25°C (298°K). $\alpha_{\text{O}_2} = 0,029$ og $\alpha_{\text{CO}_2} = 0,759$. Karkonstanten (k) vert då:

$$k_{\text{O}_2} = \frac{15.300 \cdot 273}{298} + 2700 \cdot 0,029 = 1,41$$

$$k_{\text{CO}_2} = 1,61$$

*) På kalibrert utstyr står volumet oppført både på kar og manometer.

Dersom trykkdirferansen i manometeret tilkopla prøvekaret er h' , og trykkdirferansen i termobarometeret er h'' vert $h = h' - (h'')$ slik som i eksempelet nedanfor:

Kalkulering etter intervall og total metode.

Tid min.	Avlesing		Intervall			Total		
	Termobaro- meter (h'')	Prøvebaro- meter (h')	h''	h'	h	h''	h'	h
0	150	152						
15	151	138	+1	-14	-15	+1	-14	-15
30	149	124	-2	-14	-12	-1	-28	-27
45	147	108	-2	-16	-14	-3	-44	-43
60	149	99	+2	-9	-11	-1	-53	-52

Er h for oksygenopptak 15 mm, vert oksygenopptaket i dømet ovafor: $1,41 \cdot 15 = 21,15 \mu\text{l O}_2$. Når forsøkstida og vevmengde er kjent, kan ein rekna om desse tala til oksygenopptak/vekteining/time.

Ved denne metoden måler ein til vanleg O_2 -opptak, men det er mogeleg å måla både O_2 -opptak og CO_2 -produksjon.

Dei mest vanlege feilkjeldene ved denne metoden er:

Avlesingsfeil (større tidsintervall - mindre feil)

Kalibreringsfeil

Feil ved innveging av material (større prøve - mindre feil)

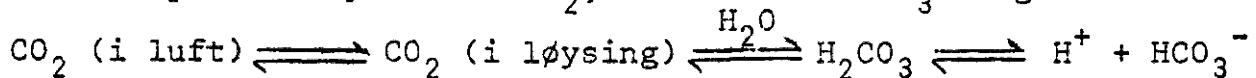
Feil ved tilsetting av væske

I tillegg til desse feilkjeldene er det ulike faktorar som kan verka inn på andingsintensiteten: Kor snøgt kara vert skaka, metoden som vert bruka til preparering av vevet (f.eks. mekanisk skade, vasketid og kvar vevsprøva vert teken), tjukkleik på vevsprøvene, samansetning av gassfasen (endring i O_2 -innhald med tida), samansetnad av mediet prøvene er suspenderte i (salter - reint vatn) og temperatur. Ved tilgang på lys kan det skje fotosyntese som vil frigi O_2 .

Kolorimetrisk

Den mest nytta metoden her, vert kalla Claypool & Keefer sin metode. Ei kjent mengde luft går gjennom ei fortynna løysing av

NaHCO_3 til likevekt vert nådd. Metoden byggjer på følgjande samband mellom partialtrykket av CO_2 , bikarbonat (HCO_3^-) og H^+ :



Dersom nok bikarbonat vert sett til slik at endringane i (HCO_3^-) vert svært små, gir endringane i (H^+) eit utrykk for CO_2 -konsentrasjonen i lufta. Løysinga er tilsett ein indikator (bromotymolblått, pH-område 6,0-7,6), og endringane i pH vert målt kolorimetrisk.

Ved denne metoden vert målt % CO_2 i luftstraumen, og luftmengda må målast nøyaktig. I tillegg til dette er CO_2 -absorbsjonen anhengig av temperaturen, og indikatorløysinga må difor haldast ved tilnærma konstant temperatur. Den tida som er turvande for å nå likevekt er avhengig av luftgjennomgangen. Som døme kan nemnast følgjande:

10 l/t - 10 min.

5 l/t - 15 "

2 l/t - 30 "

0,5 l/t - 60 "

For å få overført dei verdiane ein har fått på galvanometeret til % CO_2 , må ein ha ei standardkurve. Innhaldet av CO_2 kan variera frå ca. 0,1 til 1,8%, men helst vil ein måla i området 0,3-0,8%. Dette kan ein regulera ved å endra luftgjennomgangen (byta kapillar). For dei fleste grønsakslag har vi ei peiling på andingsintensiteten ved ulike temperaturar, og det er difor mogeleg på førehand å kalkulera kor stor luftgjennomgangen må vera. Dersom vi veit at agurk har ein produksjon på 20 mg CO_2 /kg/t, vil det seia at det vert produsert ca. 10 ml CO_2 /kg/t. Dette skal vera 0,5% av luftgjennomgangen/kg/t. Kapillaret må difor levera:

$$\frac{10 \text{ ml} \cdot 100}{0,5} = 2000 \text{ ml/kg/t.}$$

For å rekna ut CO_2 -produksjonen må produkmengde, luftgjennomgang og temperatur vera kjent. CO_2 -produksjonen vert kalkulert slik:

$$\frac{\text{mg CO}_2}{\text{kg/t}} = \frac{(\text{ml CO}_2)}{(\text{kg/t})} \cdot (\text{konverteringsverdi}^x)$$

$$\frac{\text{ml CO}_2}{\text{kg/t}} = \frac{(\text{netto \% CO}_2)}{(100)} \cdot \frac{(1 \text{ luft})}{(t)} \cdot \frac{(1000 \text{ ml})}{(1)} \cdot \frac{(1)}{(\text{kg produkt})}$$

$$\frac{\text{ml CO}_2}{\text{kg/t}} = (\% \text{ CO}_2) \cdot (10) \cdot \frac{(1/t)}{(\text{kg})}$$

$$\frac{\text{mg CO}_2}{\text{kg/t}} = (\% \text{ CO}_2) \cdot (10) \cdot \frac{(1/t)}{(\text{kg})} \cdot (\text{konverteringsverdi}^x)$$

I eit forsøk er det berre % CO₂ som er variabel, difor går dei andre faktorane inn i konstanten (K).

$$K = (10) \cdot \frac{(1/t)}{(\text{kg})} \cdot (\text{konverteringsverdi}^x)$$

$$\frac{\text{mg CO}_2}{\text{kg/t}} = (\% \text{ CO}_2) \cdot (K)$$

Døme: Vekt av produkt 1,355 kg, luftgjennomstrøyming 2,553 l/t, galvanometeravlesing av indikatorvæske gir verdi 54³ som etter standardkurven gir 0,482% CO₂. Temperatur 0°C.

$$K = \frac{10 \cdot 2,553 \cdot 1,977}{1,355} = 37,25$$

CO₂-produksjonen er: 0,482% CO₂ . 37,25 = 17,95 mg CO₂/kg/t

^xKonverteringsverdi er omrekning av CO₂ fra volum til vekt og er ved 0°C og 760 mm Hg

$$\frac{44}{22,257} = 1,9769$$

Ved andre trykk og temperaturar vert verdiane:

$$1,9769 \cdot \frac{273}{T} \cdot \frac{P}{760}$$

Ved eit atmosfæretrykk på 760 mm Hg, er konverteringsverdien ved ulike temperaturar:

°C	Konverterings-verdi	°C	Konverterings-verdi
0	1,977	15,0	1,874
2,5	1,959	20,0	1,842
5,0	1,941	25,0	1,811
10,0	1,901	30,0	1,781
12,5	1,890	35,0	1,752

Denne metoden gir inntrykk av å vera komplisert, men når ein har utstyret, er han relativt einfald. Det er sjølvsgt fleire feilkjelder ved denne metoden, m.a. må kapillarene vera nøyaktig kalibrerte. Det kan nemnast her at på grunnlag av erfaringsmateriale kan vi fort finna ut kor store kapillarer vi treng. Ved å bruke denne metoden kan ein måla andinga i svært mange kar samstundes (12 på kvar eining). Skisse av fordelingstavle (flowboard) er vist i figur 9.

Ved å kopla saman fordelingstavler som vert tilførte ulike gassar (luft, N_2 , CO_2 , O_2 og/eller etylen) er det mogeleg å laga ulike luftsamsetnader med dette systemet.

Elektrometriisk

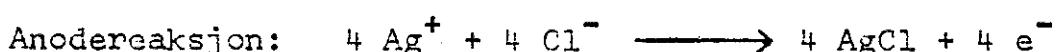
c. Infraraud absorasjon. Denne metoden byggjer på at alle ikkje primære gassar, dvs. alle gassar med unnatak for edelgassar og diatomiske gassar som O_2 , N_2 m.fl., absorberar stråler i det infraraude området, figur 10. Prinsippet for metoden er skissert i figur 11. Stråla frå dei to strålekjeldene går gjennom apparatet, filterkammer, målekammer evt. samanlikningskammer og mottakerkammer. Samanlikningskammeret er ofte fylt med nitrogen. Mottakaren er delt i to like deler med ein tett metallmembran. I både romma er det ei gassblanding som inneheld den gassen ein skal måla t.d. CO_2 . Når strålane når romma vil CO_2 absorbera desse, verta oppvarma og dette vil resultera i endring i temperatur og trykk. Ved at ei vinge lukkar og opnar for strålekjelda, vert desse endringane periodiske. Derved vert det også svingningar i membranen. På eine sida av membranen er det ein elektrode, og membranen og elektroden dannar ein kondensator der det er ein likestraum med stor

motstand. Svingningane i membranen resulterar i ein ladestraum (vekselstraum). Denne vert forsterka og likeretta og konsentrasjonen kan avlesast på eller skrivast ned på eit måleinstrument. Ved visse endringar på apparatet kan CO_2 målast i konsentrasjonar frå 0-100%.

d. Paramagnetisme. Som tidlegare nemnt er O_2 paramagnetisk, dvs. at oksygenet vert svakt magnetisk gjennom påverknad av eit ytre magnetfelt. Korleis andre gassar er, går fram av grafisk oppsett på figur 12. Vidare er det viktig at paramagnetisme er avhengig av temperaturen (omvendt proporsjonal). Desse eigenskapane vert nytta i det såkalla ringkammeret, figur 13. I ringkammeret er det innsett ein hol sylinder med eit glasrøyr som står i samband med dei to luftstraumane. Dette røyret er plassert i eit magnetisk felt og i veggen er det innlagt varmespiral. Kraft frå magnetfeltet vil dra O_2 til seg. I nærleiken av magnetskoen vert gassen oppvarma av varmespiralen. Denne oppvarminga fører til at paramagnetismen avtek. Varm O_2 -gass vert svakare bunden til magneten. Magnetfeltet søker å dra kald gass til seg. Det fører til at den oppvarma gassen vert pressa gjennom røyret og det resulterar i ein magnetisk vind. Gjennomstrøymingsfarten er avhengig av O_2 -konsentrasjonen. Ved gjennomstrøyminga vert den delen av varmespiralen som er i det magnetiskefeltet kjølt, medan den andre vert oppvarma. Mellom dei to delane av varmespiralen som danner ei grein av Wheatstone's bru, vert det ein temperatur- og motstands differanse som er proporsjonal med O_2 -konsentrasjonen. Denne vert så målt.

Det finst fleire variantar av apparat som byggjar på dette princippet.

e. Polarografi. Følaren på instrumentet har sølv anode og gull katode. Desse er skilde frå prøvegassen med ei tynn Teflon membran. Ei KCl-løysing i følaren tener som elektrolytt. Teflonmembranen er permeabel for gassar, og oksygenet vil diffundera frå prøvegassen til katoden i følgjande oksidasjons-reduksjonsprosess:



Oksygenet vert redusert ved katoden. Det vert danna ein elektrisk straum og styrken på denne er avhengig av partialtrykket i prøvegassen.

Gasskromatografi er etter kvart svært mykje nytta i forskning innan ulike fagområde. I lagringsforskninga vert dette prinsippet mykje nytta til etylenanalyser og elles til analyse av den interne atmosfære i produktet. Ein stor føremun er at det trengs små mengder og at målingane er nøyaktige. Ein skil mellom to hovudtyper:

- a. Gassabsorbsjonskromatografi der den stasjonære fasen er eit absorbsjonsmiddel, t.d. Al_2O_3 .
- b. Gass-væskefordelingskromatografi, der den stasjonære fasen er ei lite flyktig væske på eit finkorna ikkje-reaktivt pulver.

Den fyrstnemnde metoden er eldst, og det er denne som vert nytta til dei gassanalysane vi har serleg interesse av. Korleis eit apparat av denne typen er oppbygd går fram av figur 14. I slike apparat er det alltid ein bæregass. Denne strøymer gjennom kollonna som er fylt med eit høveleg absorbsjonsmiddel. Når ein sprøyter inn ei prøve, vil desse gassane følgja med bæregassen gjennom kollonna, og på grunn av ulike gassar vert absorbert i ulik grad vert dei separert. Etter at dei er separert, går dei gjennom ein detektor, og den impulsen som denne får, vert forsterka og registrert av ein skrivar. Det finst fleire typar detektorar i bruk.

- a. Varmeleiingsdetektor, TC (Thermal conductivity), som byggjer på at motstanden i ein tråd er ein funksjon av temperaturen. Temperaturen er på si side avhengig av samansettningen av gassen. Det er denne typen av detektor som er illustrert i skissa, og for O_2 og CO_2 er det denne ein nyttar med helium som bæregass.
- b. Flammejoniseringsdetektoren, FID (Flame ionization detector), som vert nytta til analyse av etylen er svært kjenslevar, og det finns standard instrument som kan måla konsentrasjonar på 5 ppb i 2 ml prøve. Her må gassane gå gjennom ein hydrogenflamme og det vert då danna ioner. Ved å måla den elektriske leiningsevna åt den ioniserte gassen, får ein eit signal som så vert forsterka og overført til ein skrivar.

Gasskromatografien kan nyttast med fordel både til kvalitative og kvantitative analysar. I både fall må ein ha standarder for å vita kor det eller dei stoffa vi er interessert i kjem og evt. kor stort utslag ein viss konsentrasjon gir.

I kvalitative analyser vert tida frå injeksjon til maksimumshøgde på toppane er nådd (retensjonstida) nytta til identifikasjon av ukjente stoff. Kvart einskild stoff har berre ei retensjonstid, men ulike stoff kan ha identiske eller nesten identiske retensjons-tider. Retensjonstida kan variera med endringar i temperatur og med farten på bæregrensen.

I kvantitative analyser nyttar ein oftast det arealet som kjem under den aktuelle toppen. Arealet under kvar topp er proporsjo-nal med konsentrasjonen av det aktuelle stoffet. Det kan difor nyt-tast til å fastslå eksakt konsentrasjon av kvart einskild stoff, f.eks. ved å rekna ut høgde • breidde ved halv høgde, ved triangu-lering, ved kutting og veging eller ved å nytta meir eller mindre komplisert tilleggsutstyr for registrering av arealet. Ofte vert berre høgda på toppen nytta, slik som vi har gjort for etylen. Denne metoden er rask, men ikkje så nøyaktig som einskilde andre. Korleis observasjonane vert notert og kalkulert er sett opp nedanfor.

Volum	Sensitivitet	Topp-høgde	Netto topp-h.	K_1	Konsen-trasjon	K_2	$\mu\text{l/kg}/\text{døgn}$
0,05 ml	1	60	60	5	300		
0,05 ml	1	X	X	5	5X	20	100 X

Netto topphøgde = Sens. • topphøgde (evt. korrigert til same volum)

$$K_1 = \frac{\text{Konsentrasjon av standard}}{\text{netto topphøgde av standard}}$$

$$K_2 = \frac{1/t \cdot 24}{\text{kg produkt}}$$

Feilkjelder ved bruk av gasskromatograf:

- a) Ulike utslag hos ulike detektorar.
- b) Endring i utslag på grunn av endring i temperatur, lufthastighet og/eller straumstyrke.
- c) Feil prøve.
- d) Urein prøve.
- e) Tap av prøve ved injeksjon eller i kollonnen.
- f) Bruk av feil kalibreringskurve og/eller feil standard.
- g) Feil eller unøyaktig kalkulering.

I tillegg til desse feilkjeldene kjem tilfeldige feil som det ikkje kan finnast årsak til.

ANDRE ANALYSEMETODAR FOR ETYLEN

Kvalitative

Epinasti hjå tomat. Dersom unge tomatplanter i god vekst vert utsett for etylen vil blada veksa meir på oversida enn på undersida (epinasti), figur 15. Ein plasserer produktet og tomatplantene i kvar sine kar som ein då forbind med kvarandre, eller ein har dei i same karet. Temperaturen bør vera over 15°C . Plantene reagerar på 0,1 ppm etylen etter 1-2 dagar. Andre gassar kan også framkalla epinasti hjå tomatblad.

Etiolerte ertespirer. Når etiolerte ertespirer vert utsette for etylen er redusert lengdevekst første reaksjon, følgd av oppsvelling og horizontal vekst etter som konsentrasjonen stig. Desse tre reaksjonane vert kalla trippelrespons. Metoden kan også nyttast for kvantitativ analyse.

Ein set 30 etiolerte ertespirer, 4 cm høge i eit kar og går fram som nemnt for tomat. Handsamingstida er 2-4 døger. Etter prøveperioden vert plantene fotografert. Ei serie planter handsama med ulike, kjende konsentrasjonar vert nytta som samanlikningsmaterial ved kvantitativ analyse. Metoden kan nyttast for konsentrasjonar frå 0,005-10 ppm.

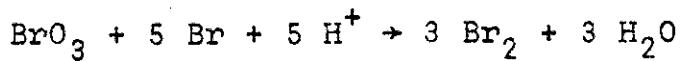
Kvantitative metodar

For analyse av intern gass i frukter er to metodar nytta tidlegare, permanganatmetoden og brommetoden, men etter at vi fekk gasskromatografien, er desse lite aktuelle. For måling av etylenproduksjonen er det også fleire metodar. Brommetoden som nedanfor er nemnt, kan også nyttast for måling av etylenproduksjonen, men det er ei ulempe at ein må ta ut prøver frå lukka kar. Ved gjennomstrøyming vert det ikkje kvantitativt.

Brommetoden: Etylen vert kvantitativt brominert av brom som vert danna når standard KBrO_3 vert sett til ei sur løysing av KBr . Ved etterfylgjande tilsetting av KJ og titrering med tiosulfat av

den frigjevne J, finn ein den mengde bromat som er brukt og dermed etylenmengda.

Reaksjonane er:



0,1 ml 0,0025 N KBrO₃ = 0,0028 ml etylen ved normal temperatur.

Ein metode som har vore ein del nytta, byggjer på ein kombinasjon av absorbsjon ved gjennomstrøyming og måling i eit lukka system.

I nyare arbeid vert anten AgSO₄ i H₂SO₄ eller Hg(ClO₄)₂ i HClO₄ nytta som absorbsjonsmiddel. Sidan ein med gjennomstrøymingsprinsippet må ha luft som er fri for etylen og andre flyktige gassar skal vi kort nemne korleis desse kan fjernast. Den mest einfelde metoden er å nytta eit absorbsjonsrøyr med 20 g brominert aktivt kol og 20 g aktivt kol. Den rensa lufta går så gjennom eit kar med produkt og vert då pressa gjennom H₂SO₄ der andre flyktige gassar enn etylen vert oksydert. Dei kan bestemmast etterpå, men det krevst då oksydering i autoklav. Lufta med etylen passerar vidare granulert magnesiumklorat for å fjerne eventuelle restar av slike gassar. Etylen vert tilslutt absorbert i det valde absorbsjonsmiddelet. Dersom ein berre vil vita etyleninnhaldet, seier YONG et al. at absorbsjonen i kvikksølvperklorat-perklorsyre-løysinga er selektiv. Etter metoden til YONG et al. må absorbsjonen skje ved 0°C.

Siste trinn i analysen er då å måla den absorberete etylenmengda. Etter metoden til YONG et al. skjer dette manometrisk ved 25°C i eit Warburgapparat. Etylenet vert då frigjeve ved tilsetting av HCl. Etter den metoden som vert nytta på Cornell University titrerar ein etter oksydering. Dersom ein nyttar absorbsjon i ei sølavløysing, nyttar ein våt forbrenning med kromsyre. Etterpå bestemmer ein innhaldet av karbon som ein reknar om til etylen.

Av desse metodane er den til YONG et al. den nøyaktigaste, men også den som vert nytta på Cornell lar ein nøyaktighet på 0,5 ppm eller 0,3 mg.

Ved alle desse metodane må luftgjennomgangen målast. Det finst også andre metoder i bruk, m.a. kan ein nytta apparat der ein nyttar absorbsjon av infraraude strålar, men då må konsentrasjonen vera høg.

Det er også utvikla ein kolorimetrisk metode for etylen (MAC PHEE 1954, referert av AEBLES 1973). Reagensen innehold 6,1 g natrium-molybdat, 25 ml vatn, 0,35 ml av ei 10% løysing av palladiumsulfat 40 ml iseddik og 40 ml konsentrert svovelsyre, blanda i nemnde rekkefølge. Reagensen kan lagrast i fleire veker i mørkeret. Den gule fargen på løysinga går over til blått under påverknad av reduserande stoff som etylen, andre olefiner eller CO₂. Absorbsjonsmaksimum av det reduserte molybdate var 685 nm. Reaksjonen mellom 45 ppm etylen og 20 ml reagens i ein 2 l kolbe vil gi absorbanse på 0,80 etter ei inkubasjonstid på 1,5 time ved 60°C.

Reagensen kan også brukast etter absorbasjon i silica gel, og KOBAYSKI (1957) har utvikla ein einfold metode for absorbasjon av etylen i liknande reagens. Dette billede måleutstyret, handpumpe og glasampullar med reagens, er marknadsført under namnet KITAGAWA gassanalysator, figur 16. Pumpe kosta i 1976 ca. kr. 400,-, og kvar gassampulle (eingongs) kr. 3,25. Måleområdet er 0,1-100 ppm etylen. Minste registrerbare konsentrasjon er ca. 0,01 ppm. Fargen på reagensen etter reaksjonen med etylen vert samanlikna med eit fargekart.

Reagensen i prøverøyra kan også reagera med blåfarging på CO₂, butan, pentan, butylen eller propylen. Meir enn 1 ppm nitrogenoksyd hindrar at etylenet endrar farge på reagensen.

Med andre reagensar kan Kitagawa gassanalysator nyttast til å måla innhald av andre gassar.

EKSTRAKSJON OG ANALYSE AV GASS FRÅ PLANTEVEV OG -SAFT

Gass er tilstades i intercellulærromma av plantevevet og oppløyst i cellesafta. Det er fleire metodar for fjerning av total gass, intercellulærgass og for total CO₂.

- a) Totalgass. Gassen vert ekstrahert ved å plassera vevet i vakuum. Analysen vert utført med fleire variantar av konvensjonelle apparat.

- b) Intercellulærgass. Et røyr vert plassert i vevet, og gass vert sugd ut og analysert. For store prøver har Haldanapparatet vore mykje nytta, for mindre er Bonnier-Mangin mikrogassanalyseapparat og Slyke's metode også nytta. Scholander burde også vera bra for slike analyser. For tida er gasskromatografi mest nytta. Prøver vert då tatt ved hjelp av injeksjonssprøyte.
- c) Total CO₂. Ein vanleg metode er å koka vevet med alkohol eller vatn og la det frigjevne CO₂ verta overført til standard alkali. Fleire variantar er i bruk.

LITTERATUR

- AEELES, F.B. 1973. Ethylene in plant biology. Academic Press New York and London, 302 pp.
- CLAYPOOL, L.L. & KEEFER, R.M. 1942. A colorimetric method for CO₂ determination in respiration studies. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 40: 177-186.
- CORNELL UNIVERSITY 1955. Determination of ethylene with simultaneous estimation of total oxidizable volatiles other than ethylene.
- CROCKER, W., ZIMMERMAN, P.W. & HITCHCOCK, A.E. 1932. Contrib. Boyce Thompson Inst. 4: 177.
- DILLEY, D.R., DEWEY, D.H. & DEDOLPH, R.R. 1969. Automated system for determining respiratory gas exchange of plant materials. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94: 138-141.
- HALDANE, J.S. & GRAHAM 1935. Methods of air analysis. London. Griffin & Co.
- KENTEN, R.H. 1956. Gasometric analysis in plant investigation. Paech & Tracey: Modern methods in plant analysis I: 415-51.
- KOBAYASHI, Y. 1957. J. Soc. Org. Syn. Chem., Tokyo 14: 137.
- MACPHEE, R.D. 1954. Anal. Chem. 26: 221.
- MCNAIR, H.M. & BONELLI, E.J. 1969. Basic gas chromatography. Varian Aerograph, California.
- SCHOLANDER, P.F. 1947. Analyzer for accurate estimation of respiratory gasses in one-half cubic centimeter samples. The Journal of Biological Chemistry Vol. 167: 235-250.

SESTAK, Z., CATSKY, J. & JARVIS, P.G. 1971. Plant photosynthetic production. Manual of methods. Dr. W. Junk n.v. Publisher, The Hague.

SPIERINGS, F.H. et al. 1952. Applications of the diaferometer technique to studies on the gas exchange and the carbon dioxide content of potato tubers. Meded. van de Landbouwhogeschool te Wageningen 52: 3: 93-104.

TOLEDO, R. STEINBERG, M.P. & NILSON, A.I. 1969. Heat of respiration of fresh produce as affected by controlled atmosphere. J. Food Sci. 34: 261-264.

UMBREIT, W.W. et al. 1949. Manometric Techniques and tissue metabolism. Burgers Publ. Co. Minneapolis.

YONG et al. 1952. Manometric determination of low concentrations of ethylene. Anal. Chem. 24: 3: 551-555.

Andre metodar:

Titrimetriske metodar er omtala i ei rekke handbøker. Elektrometriske metodar er også omtala i einskilde bøker, men mange produsentar har utførlege brosjyrer over dei apparata dei produserar, t.d. har Hartmann & Brown ei lita bok "Physical gasanalysis".

Laging av atmosfærer med kjend samansettning

PRATT, H.K. et al. 1960. Simple method for continuous treatment of plant material with traces of ethylene or other gasses. Plant Physiol. 35: 5-609-611.

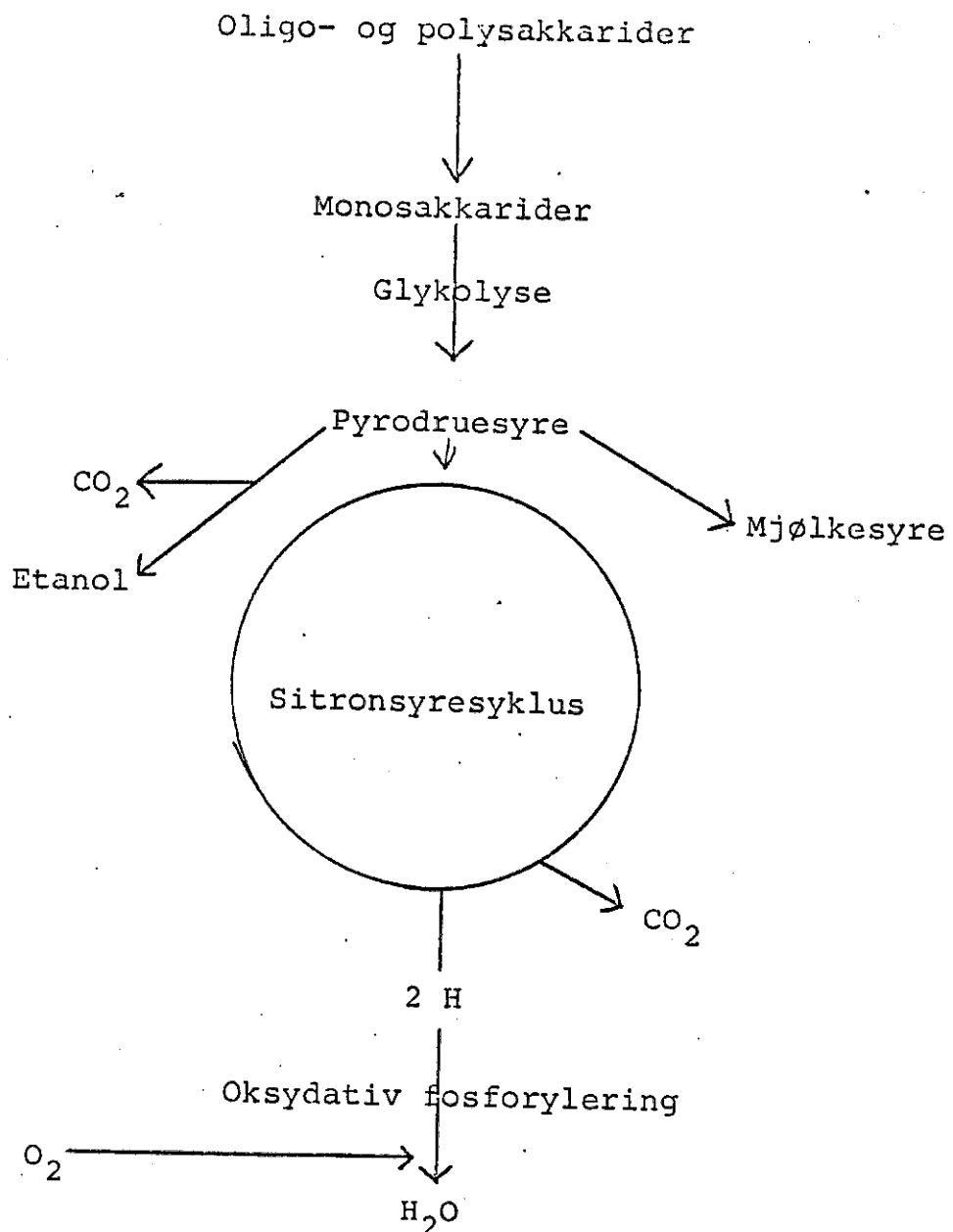
Ekstraksjon og analyse av gass frå plantevev og saft

PAECH & TRACEY 1956. Modern methods of plant analysis I. Sprenger Verlag, Berlin. I denne boka finn ein ei utfyllande litteraturliste.

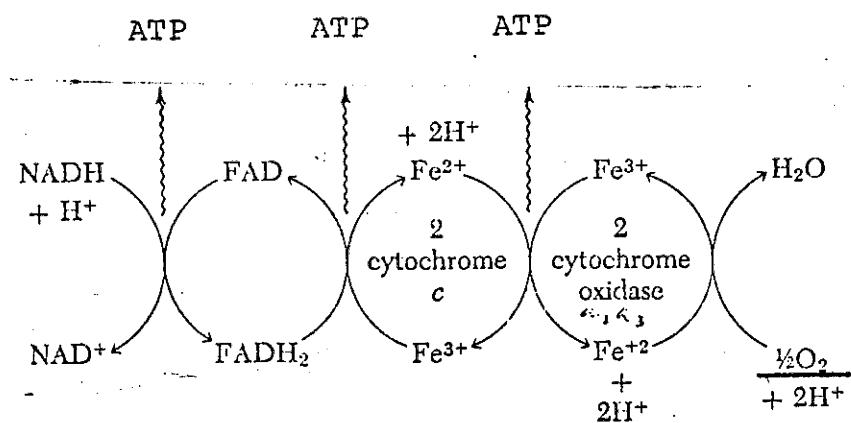
Smith, W.H. 1947. A new method of determination of the internal atmosphere of fleshy plant organs. Ann. Bot. N.S. 11: 363.

HULME, A.C. Apparatus for the measurement of gaseous conditions inside an applefruit. Journ. of Experimental Botany. Vol. II: I: 65-85.

EAKS, I.L. & LUDI, W.A. 1960. Effect of temperature, washing, and waxing on the internal atmosphere of orange fruits. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 76: 220-28.



Figur 1.



Figur 2. OKSYDATIV FOSFORYLERING

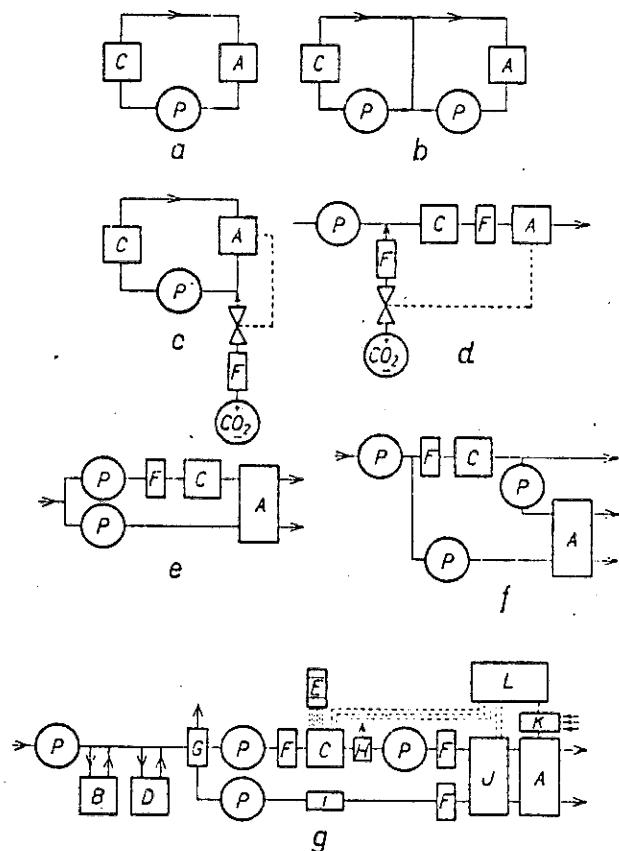
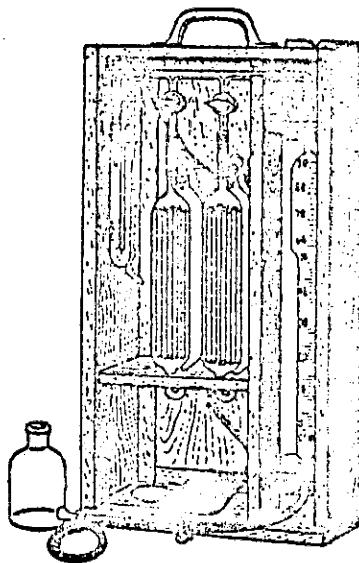


Diagram to show the main features of different kinds of gas exchange systems. *a* and *b* closed systems; *c* and *d* semi-closed systems; *e*, *f*, *g* open systems. In *a* to *f* only the principal components are shown: *A* infra-red gas analyser; *C* assimilation chamber; *F* flow meter; *P* pump. In *g* additional components which may be found in a simple working system are shown: *B* carbon dioxide control unit; *D* humidity control unit; *E* temperature, lighting and ventilation control units; *G* manifold reservoir with blow off to atmospheric pressure; *H* blow off chamber; *I* by-pass; *J* humidity or oxygen measuring instrument; *K* gas analyser calibration unit; *L* data recorder. The positions of the various components, the pumps especially, can be varied to suit individual needs. (Sestak et. al. 1971)

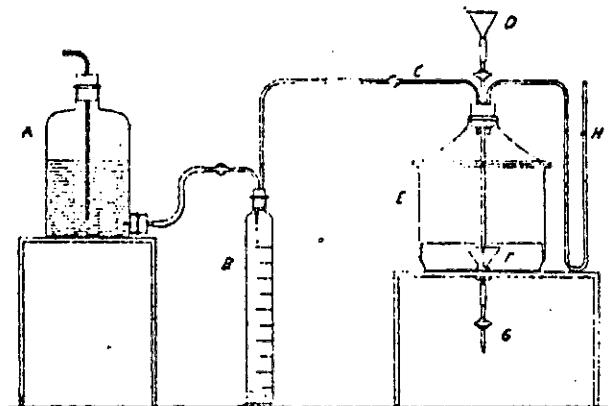
Figur 3.



Orsat apparat

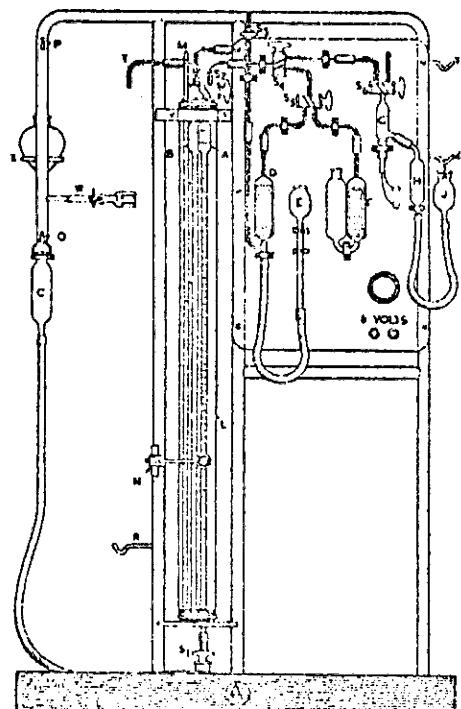
Figur 4.

Gassometriske metodar.



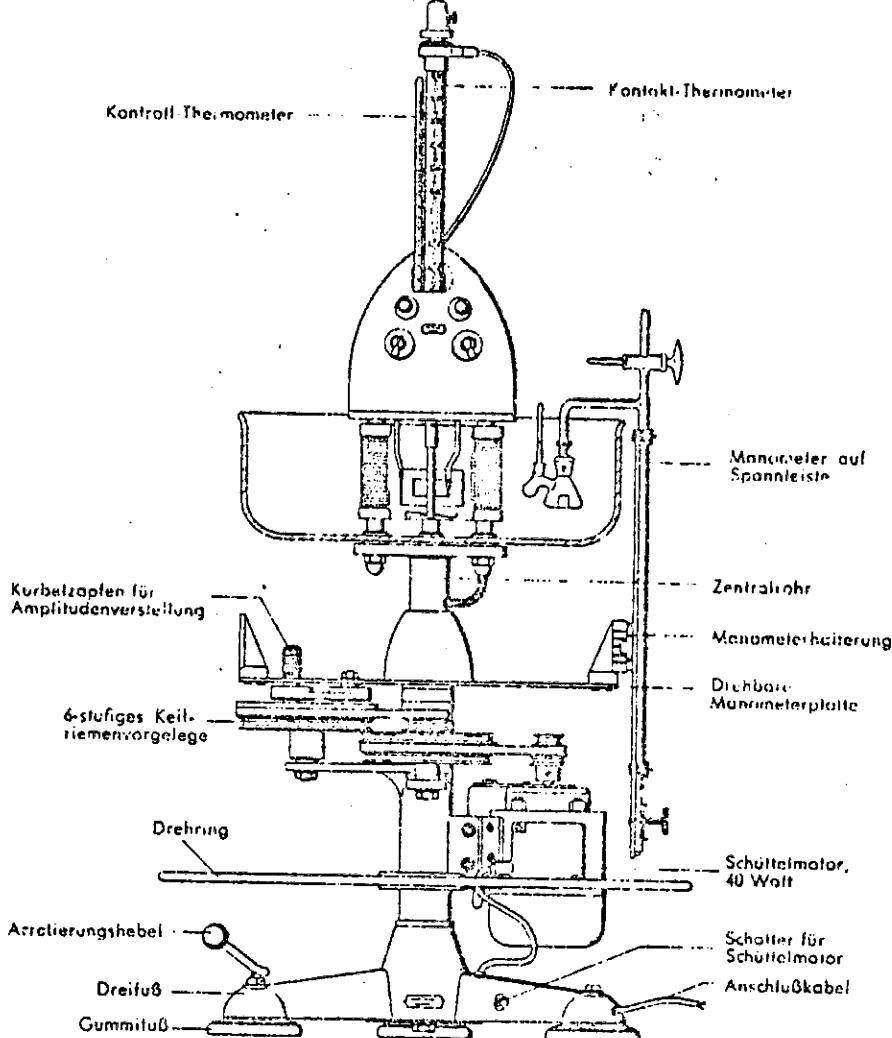
Magness & Diehl's metode

Figur 6.



Haldane apparat

Figur 5.



Warburg apparat

Figur 7.

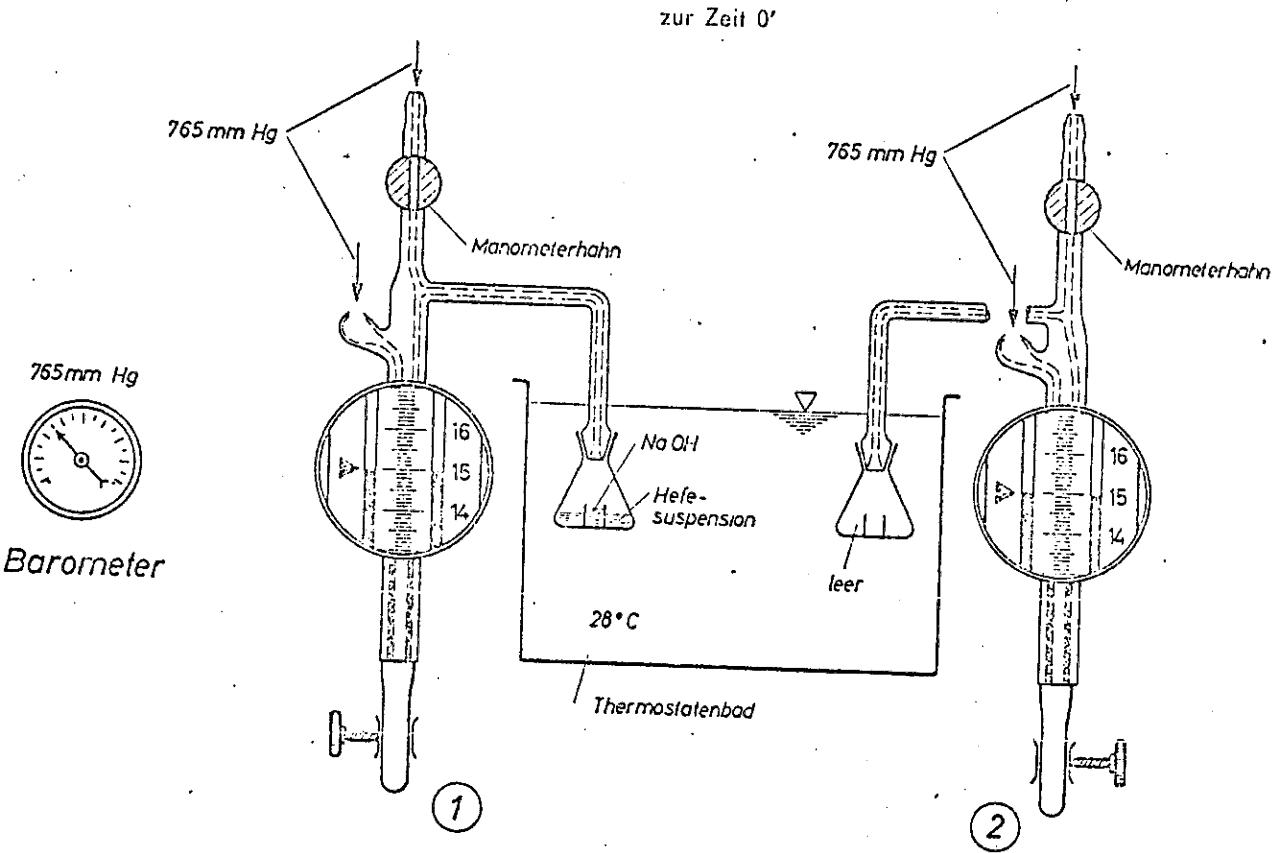
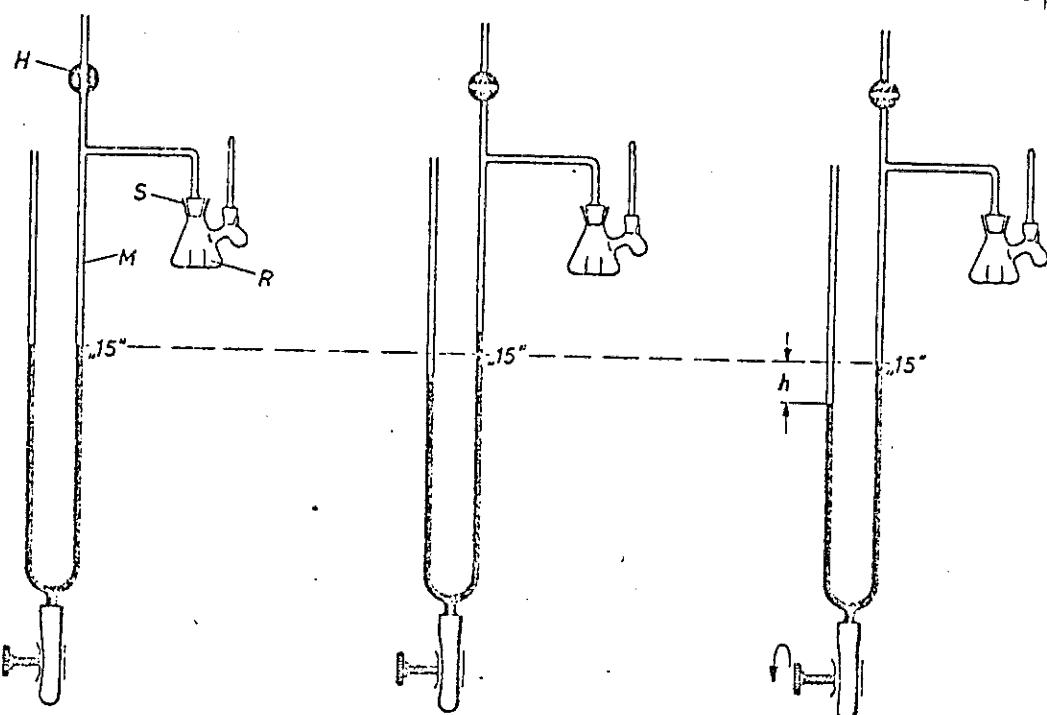


Abb. 5

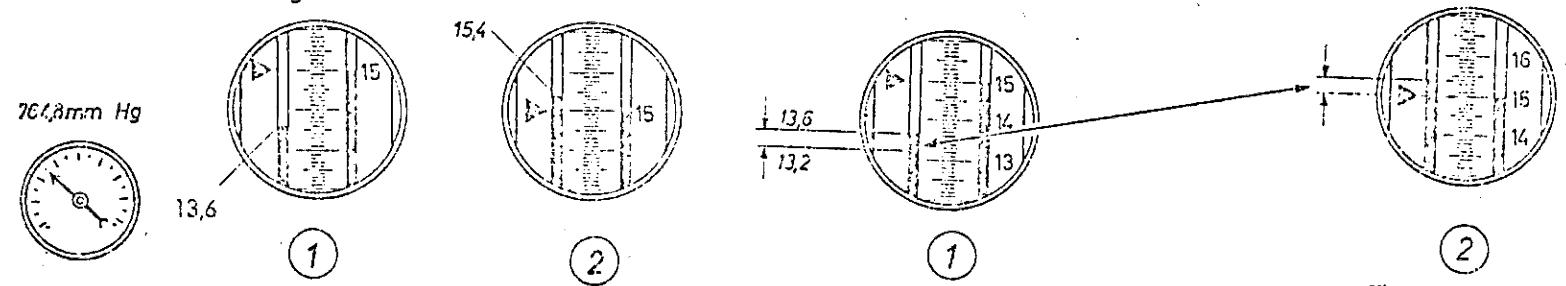
Versuchsmansetometer

Thermobarometer



zur Zeit 35'
(nach Manometereinstellung)
2. Ablesung

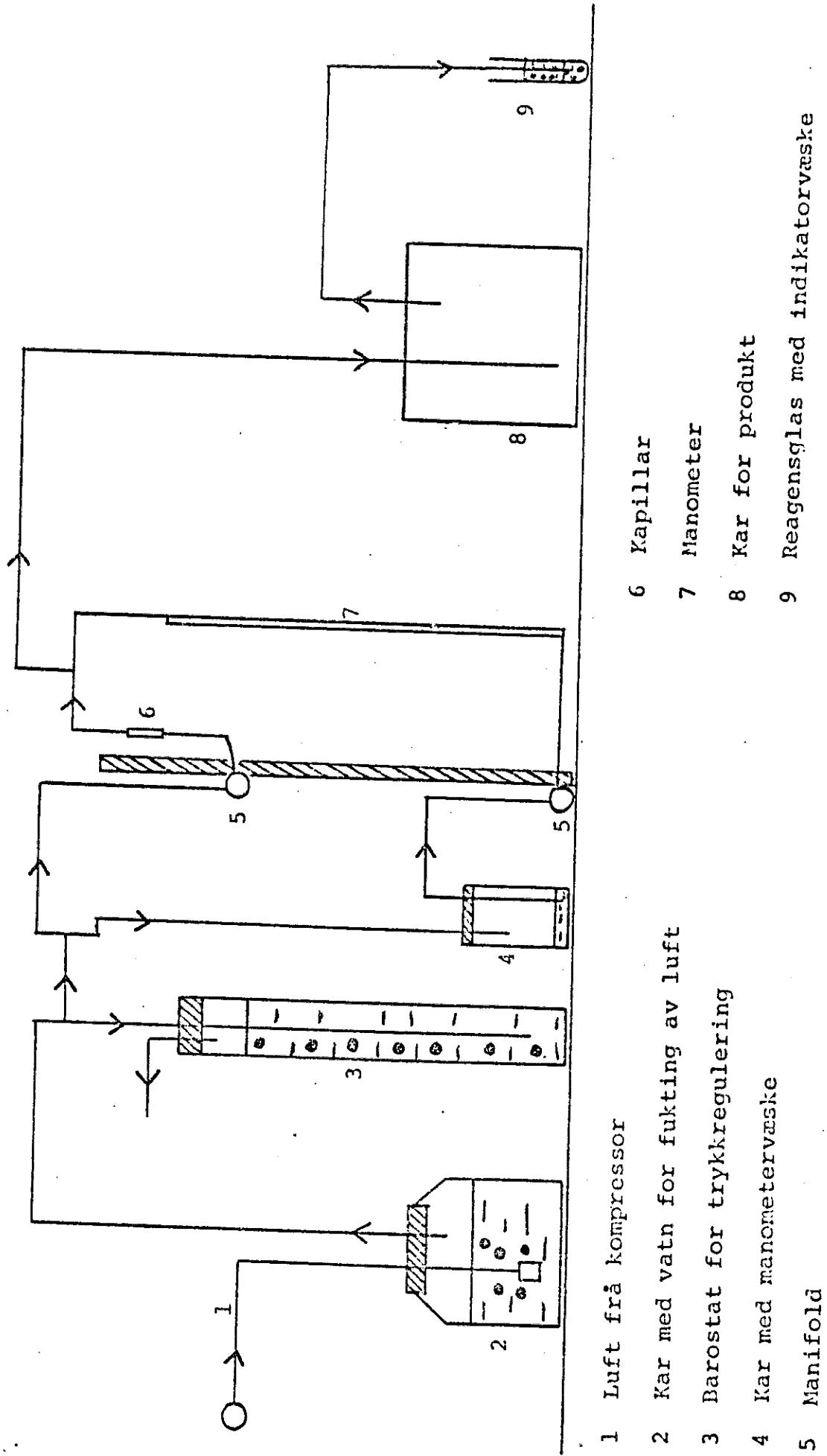
zur Zeit 35'
2. Ablesung



Thermobarometer

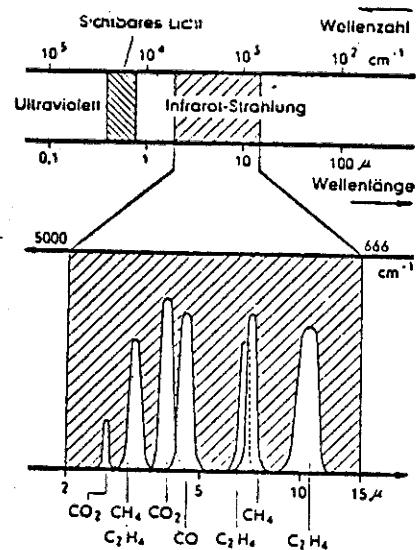
Figur 8

Fordelingstavle (Flowboard) bruka ved kolorimetrisk metode for andingsmåling.
(CLAYPOOL & KEEFER)



Figur 9.

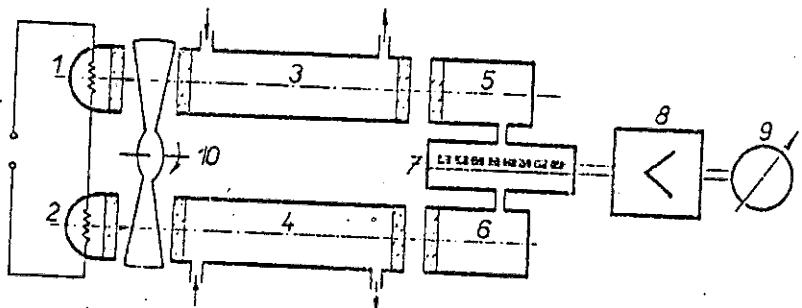
Elektrometriske metoder



Elektromagnetisches Strahlenspektrum mit Absorptionsbanden für CH₄, CO und CO₂ im Infraroten, schematisch

Figur 10.

Construction of infra-red CO₂ analysers



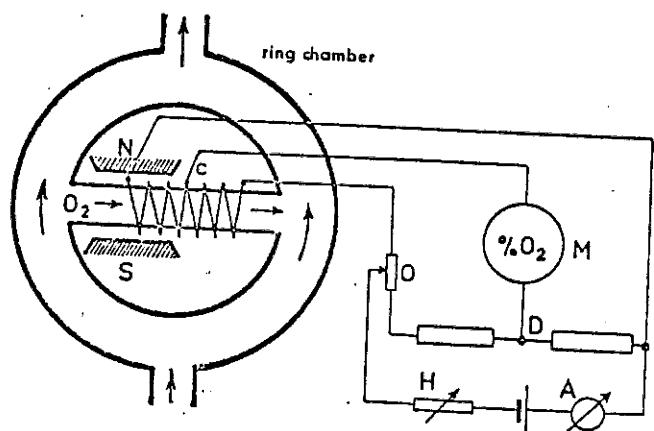
Construction of IRGA with detector absorption chambers in parallel.
1, 2: sources of radiation, 3: reference tube, 4: sample tube, 5, 6: absorption chambers
7: detector, 8: amplifier, 9: meter, 10: rotational shutter.

Figur 11.

Sauerstoff	100
Luft	~315
Kohlendioxyd	~61
Argon	~58
Ammoniak	~58
Stickstoff	~42
Acetylen	~33
Vernam	~37
Arena	~33
C ₂ H ₂	~15
Wasserstoff	~12
Siliciumdioxid	~53
Siliciumdioxyd	~33
Dampfgehalt	paramagnetisch

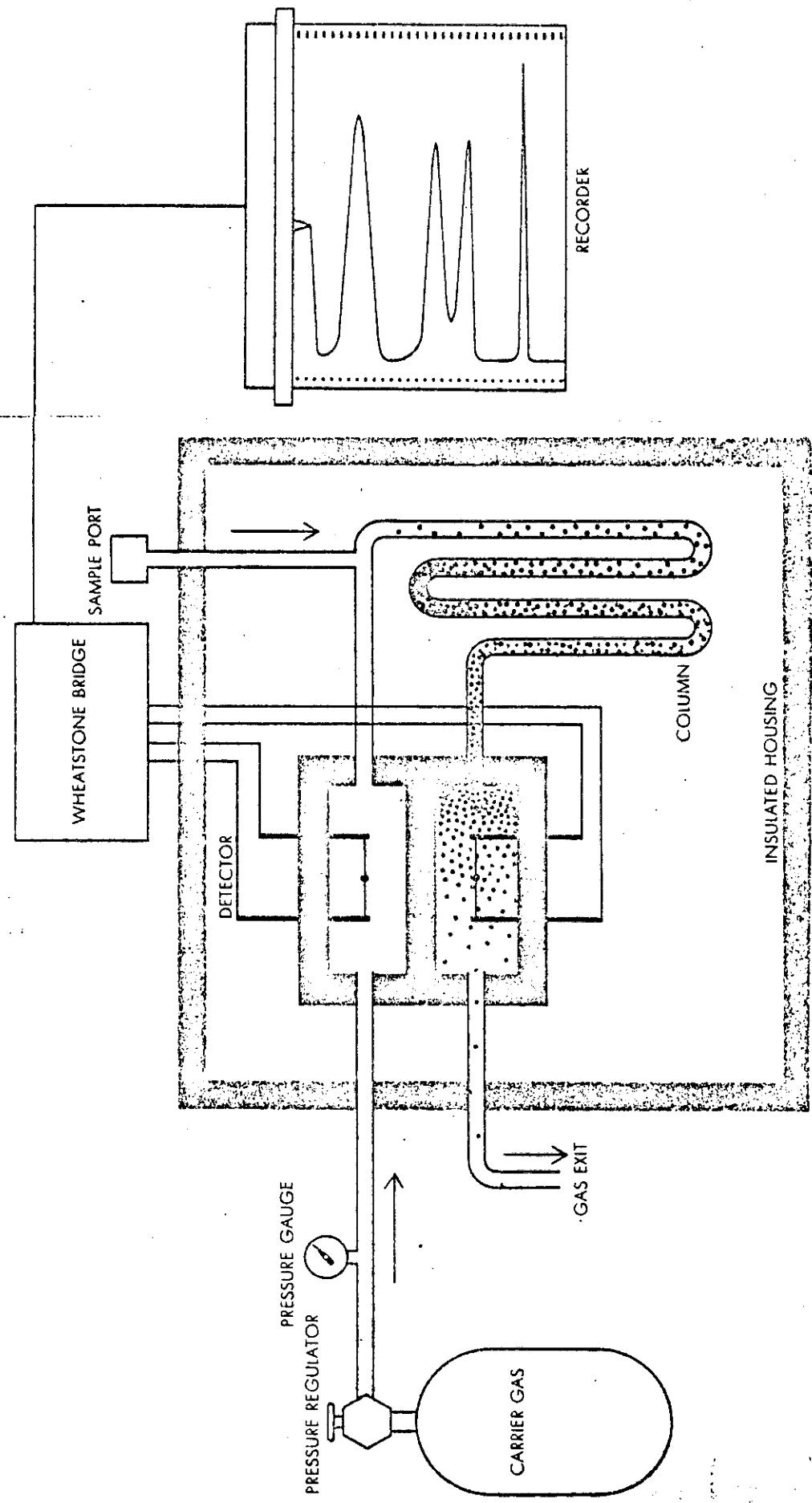
Bild 1 Relative magnetische Suszeptibilität technisch wichtiger Gase
(Sauerstoff = 100)

Figur 12.

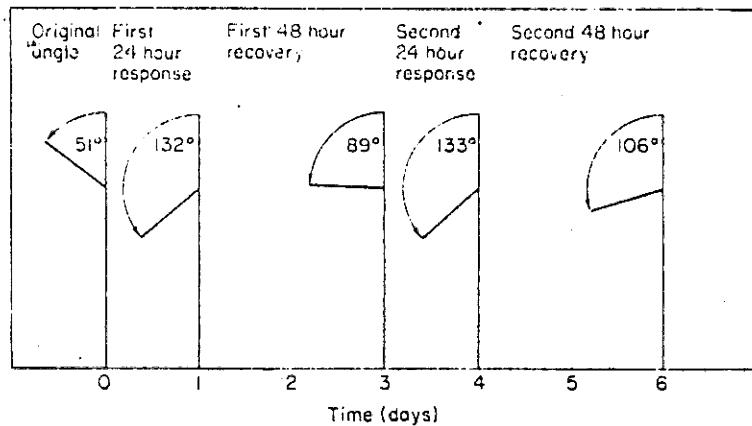


Schematic diagram of the magnetic oxygen meter MAGNOS

Figur 13.

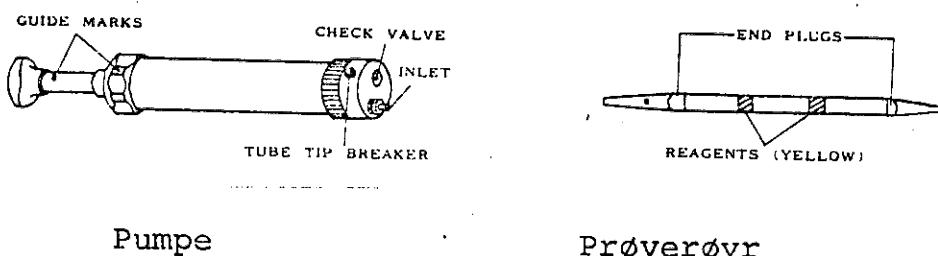


Figur 14. Skisse over gasskromatograf med varmelejningsevdetektor.



Curvature and recovery of tomato petioles after ethylene treatment. [Courtesy Crocker *et al.* (46).]

Figur 15.



Pumpe

Prøverør

Figur 16. Kitagawa etylen-analysator.

Måleområde: 0,5 - 100 ppm

0,1 - 20 ppm

Tid til

prøvetaking: 3 min. (1 pumpedrag)

15 min. (5 pumpedrag)

Fargeendring:

Gult

-

blått