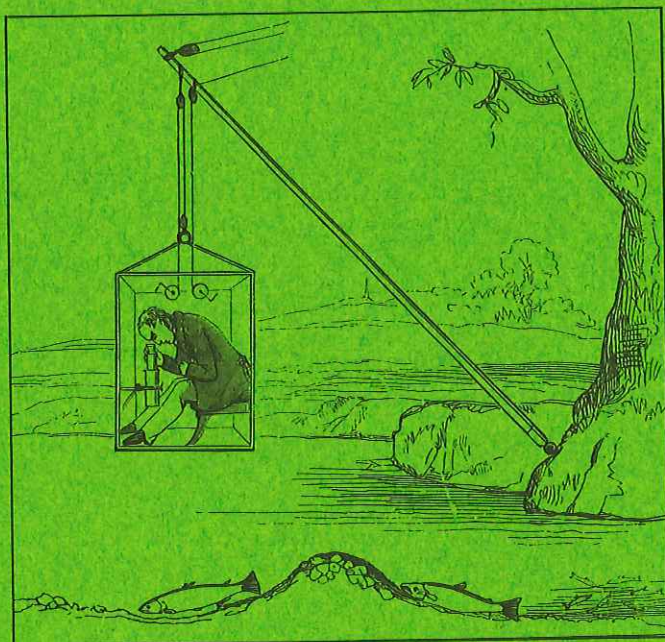


Information från

# SÖTVATTENS- LABORATORIET

## Drottningholm



# OM KALORIBESTÄMNINGAR MED MIKROBOMBKALORIMETER

Hans Willner

INLEDNING	2
MATERIAL OCH METODIK	2
RESULTAT	6
DISKUSSION	12
SAMMANFATTNING	14
ERKÄNNANDE	14
LITTERATUR	14
SUMMARY: ON CALORIFIC DETERMINATIONS USING A MINIATURE BOMB CALORIMETER	15
APPENDIX	20

## INLEDNING

Inom den ekologiska forskningen riktas intresset ofta på olika biotopernas energiomsättning på skilda nivåer. För den fototrofa nivån används framför allt  $C^{14}$ -metoden, i vissa fall utbytt mot syrgas- eller klorofyllmetoden, för bestämning av den primära produktionen. Inom nivåerna med konsumenter kan energimängden lämpligen uttryckas i enheten kalori, som då kopplas samman med viktsenheter på våtvikt, torrsvikt eller askfri torrsvikt. För analys av kaloriinnehållet hos ett biologiskt material har Phillipson (1964) konstruerat en förbränningsapparat, som kan användas vid små provmängder.

Syftet med arbetet blev att studera funktionen hos denna kalorimeter, samt att till den mer teoretiska delen applicera en praktisk. För detta ändamål gjordes under hösten 1969 och våren 1970 först en noggrannare metodstudie och därefter en enklare försöksserie på några olika typer av bottendjur. Det undersökta biologiska materialet har i huvudsak hämtats från sjön Erken (Nauwerck 1963), samt dess utloppsäck. I arbetet har dessutom gjorts en del jämförelser mellan de egna resultaten och de som återfinns i senare års arbeten inom samma ämnesområde. Av den problematik som behandlats kan, förutom det ovan omtalade arbetet av Phillipson, nämnas Slobodkin - Richman (1961), som undersökt kalorimängdens fördelning bland 17 st. fritt valda arter representerande olika typer av djur från ciliater till fisk. Sitaramaiah (1967) har studerat vattenhalt, kväve samt energiinnehållet hos sötvattensorganismer och Golley (1961) har undersökt kalorimängdens variation i tiden hos framför allt växter, samt dessutom gjort en mindre jämförelse mellan olika djurgrupper.

## MATERIAL OCH METODIK

För genomförandet av arbetet användes, som tidigare omtalats, en mikrobombkalorimeter enl. Phillipson (1964). Apparatens sammankoppling framgår av Fig. 1 och består av tre enheter, transformator, kondensator och ställning med bomben. Transformatorn anslutes till kondensatorn, som är av typen vridpotensiometer, vilket medför att potentialen för tändspänningen kan regleras inom vissa gränser. Meningen är att tändspänningen skall ställas lågt men ändå vara tillräcklig för att antända provet som är placerat inne i bomben. Kondensatorn är dessutom utrustad med två kontakter, en för att starta uppladdningen och en för att momentant kunna urladda densamma. Från kondensatorn leder en kabel vidare till mikrobombens ställ. Detta består av en skålad kopparring inlagd i ett icke värmeledande ämne. I anslutning till kopparringen ligger åtta stycken termistorer, som skall registrera temperaturvariationen hos mikrobomben. Över mikrobomb och ställning finns dessutom en skyddande stålhuva. Den

av temperaturförändringen inducerade variationen i termistorernas potential överförs med hjälp av en ansluten skrivare till en grafisk bild, från vilken analysens resultat kan beräknas. Utslagets storlek beror dels på provets storlek, dels på vilken grad av känslighet skrivaren är inställd på. I det aktuella fallet ställdes känsligheten så att fullt utslag, motsvarande registreringspapperets hela bredd, erhöles vid en potentialförändring av 0,8 mV. Rent allmänt kan sägas att hög känslighet hos skrivaren ger större säkerhet vid bedömningen av resultatet från en analys av en mindre provmängd.

Det första momentet blev att upprätta en referenskurva med hjälp av bensoesyra som standard. Denna kemiska substans är lämplig därför att den har ett känt kaloriinnehåll, den innehåller inte något kristallvatten och ger vid förbränning inte någon askrest. Slutprodukterna utgörs av koldioxid, vatten och kvävehaltiga gaser, vilka delvis löser sig i det bildade vattnet.

Efter att ha torkat i värmeskåp vid 60°C under ett dygn placerades bensoesyran i en exiccator för att sluttorka och svalna till rumstemperatur. Därefter utfördes analysen vars principiella genomförande var följande: I en speciell stålcylander tillverkades en pellet av den torkade bensoesyran. En platinaskål vägdes därefter först utan och sedan med bensoesyran. Genom enkel subtraktion kunde pelletens vikt framräknas. Alla viktsbestämningar, både på standard och på det biologiska materialet, gjordes med en noggrannhet på 0,1 mg. Mellan bombens båda inre kontakter fästes en platinatråd med väl tilltagen längd. På bombens provhållare placerades därefter platinaskålen med den vägda bensoesyran och den nu böjda platinatråden kom att med ett lätt tryck ligga an mot pelleten. Därefter skruvades bombens båda delar försiktigt ihop, först för hand och slutligen med hjälp av nyckel. För att göra den erforderliga tätningen tillräcklig fanns en packning av teflon mellan bombens båda hälften. Med hjälp av en s.k. snabbkoppling fylldes bomben därefter med ren syrgas tills trycket uppgick till ca 30 atm. Under den ovan beskrivna behandlingen kommer mikrobomben att vid kontakten med händerna få förhöjd temperatur. För att åter sänka den till lämplig nivå, kyls stålkulan i vatten vilket tillåts gå över skarven mellan de båda hälfterna. På detta sätt kan man samtidigt upptäcka om tätningen är tillräcklig eller om syrgasen tränger ut, vilket i så fall visar sig genom att det bildas bubblor runt packningen. Då man kunde anta att bombens temperatur sjunkit till något under rumstemperatur, togs den upp ur vattenbadet och torkades med stor noggrannhet.

Nästa steg blev att placera bomben i kopparringsstället, samt ansluta den till kondensatorn. Över allt detta placerades till sist den skyddande stålhuven. Även denna kommer genom kontakten med händerna att få högre temperatur, vilket kunde förorsaka störningar under försökets gång. Av denna anledning fordrades stålhuven invändigt med ett lager av frigolit, ett mycket värmeisolerande material av plast, vilket också fick den positiva bieffekten att luftvolymen runt stålkulan minskade. På den

sedan en tid (ca 10 min.) tillslagna skrivaren kunde nu konstateras hur temperaturjämvikt inställde sig. Vanligen sjunker utslaget först hastigt, för att efter ett tag övergå till att långsamt stiga. Då utslaget inte ökade med mer än 1 mm per minut, ansågs provet färdigt att antändas. Normalt tar denna stabiliseringstid 8 - 10 min. Kondensatorn slogs på och hade efter 1/2 min. nått maximal uppladdning. Då den skrivande nålen passerade en tvärlinje på registreringspapperet slogs kontakten för urladdning till, polleten antändes vilket gjorde att bombens temperatur steg. Denna temperaturförändring registrerades av de åtta termistorerna som resulterade i att skrivaren gav, ett mot förbränningsattsens storlek, motsvarande utslag. Eftersom papperet samtidigt löper med inställd hastighet kommer det grafiska resultatet att få formen av en sigmoid kurva, som visas i Fig. 2.

Framräkningen av den energimängd, som motsvarar kurvan, har fått en "teoretisk" och en "praktisk" tolkning. Den "teoretiska" tolkningen som beskrivs här är hämtad från Phillipson's arbete i Oikos 1964. Enligt beteckningar i Fig. 2 tas hänsyn till stigningen av kurvan per tidsenhet före antändningen, till totalhöjden och till kurvans nedgång per tidsenhet efter att maximumhöjden nåtts. Beräkningen av energimängden tillgår så, att man uppskattar stigningen under den sista tidsenheten före antändningen och multiplicerar denna med den tid det tar för kurvan att nå 60 % av den totala stigningshöjden. Talet man då får subtraheras från totala stigningshöjden och till denna summa adderas det tal man får som produkt av kurvans sänkning under en tidsenhet efter "peak" och den tid det tar från 60 % till 100 % av den totala höjden (peak). Bakgrunden till denna beräkningsform är, att bomben före punkten för 60 % upptar värme från omgivningen, medan den å andra sidan avger energi under tiden från 60 % till 100 % av totalhöjden.

I detta arbete skiljer sig beräkningsformen något från den ovan relaterade. Det bör kanske i sammanhanget påpekas att även Phillipson tycks använda en metod liknande den nedan beskrivna vid de praktiska beräkningarna. Om man förutsätter att jämviktstemperaturen, som här representeras av rumstemperaturen, ligger någonstans mitt i den erhållna kurvan får man under förbränningsens förlopp ett visst tillskott av värme först och därefter en viss avgång. Genom den förbättrade isoleringen av den skyddande stålhuven, har dessa störande moment kunnat göras minimala. Under nämnda förutsättningar kan man på mycket goda grunder anta, att den absoluta storleken av den yttre påverkan får sitt minimum då man låter den upptagna energimängden kompensera den senare avgivna. Rent praktiska skäl har i detta fall också varit av betydelse, då den per tidsenhet avgivna värmemängden efter "peak" liksom dess exakta position på kurvan varit i det närmaste omöjlig att uppskatta. Vid den praktiska beräkningen har helt enkelt den totala höjden på kurvan uppmätts och fått representera det sökta talet vid utvärderingen av energimängden.

Efter att ha mätt energiinnehållet i tio bensoesyraprover med vikten varierande från 3,4 till 10,7 mg, uppsattes de erhållna resultaten i ett koordinatsystem, där axlarna representerade vikten i mg och kurvans utslag i mm. De punkter som därvid erhöles

kunde rent okulärt uppfattas som samlade längs en rät linje. Då det skulle stöta på stora svårigheter att på fri hand upprita den mest representativa grafiska bilden av de inprickade punkterna, framräknades med hjälp av regressionsanalys ekvationen för de två linjer, där den ena uttrycker regressionen av "y på x" och den andra av "x på y" och som i detta fall stod som symboler för  $y =$  utslaget i mm och  $x =$  vikten bensoesyra i mg. Statistiskt ger användandet av dessa ekvationer i genomsnitt det minsta felet vid praktiska beräkningar. I detta fall valdes ekvationen som gavs genom regressionen av vikten på utslaget dvs. regressionen av "x på y", eftersom man vid analyserna kan mäta kurvans höjd och vill överföra detta till motsvarande mängd bensoesyra. Den ekvation som användes vid de fortsatta analyserna fick formen  $X = 0,1105 Y + 0,0186$  och av denna kan man bl.a. se, att den linje som ekvationen symboliserar skär viktsaxeln 0,0186 enheter från origo och att för varje millimeter kurvan ökar, ökar den tänkta pelletens vikt med 0,1105 mg.

Samtidigt uträknades korrelationskoefficienten för punkterna, vilken ger ett mått på sammanhållningen av de inprickade värdena efter den "ideala linjen". Värdet på koefficienten, som kan variera i absolutvärde från 0 till 1, blev i detta fall 0,9982 vilket upplyser om en mycket god positiv korrelation. Detta medför att ekvationens ställning som lämplig mall vid beräkningarna högst väsentligt stärks. De ovan omtalade punkterna återfinns grafiskt framställda i Fig. 3 där också den använda ekvationens linje finns inritad.

Vid antändningen av ett prov kommer platinatråden att för ett kort ögonblick bli glödande. Den eventuella inverkan, som tillskottet av den därvid bildade energimängden kunde ha vid de ordinära förbränningarna, testades med ett nollprov. Apparaten fick under en längre tid ställa in sig i ett jämviktsläge. Därefter laddades kondensatorn under en minut, urladdades med kontakterna fastsatta på bomben, som vid ett vanligt försök bara med den skillnaden att ingen brännbar substans fanns applicerad. Då skrivaren inte gav något utslag, utan den grafiska bilden resulterade i en rak linje, gjordes det antagandet att energitillskottet genom glödningen av platinatråden inte påverkade analyserna i någon registrerbar omfattning och därför kunde negligeras.

Till det praktiska försöket utvaldes fem djurgrupper, som i någon mån skulle representera olika ekologiska nischer. Från pelagialen valdes den fritt levande tofsmyggans, *Chaoborus* sp., larv, medan *Asellus aquaticus* valdes i gruppen av djur med ett ytligt bottenlevande sätt. Organismer med förekomsten något djupare i sedimentet erhöll också två företrädare, den på grundare bottnar levande *Ephemera vulgata* och den mot större djup så betydelsefulla *Chironomus plumosus*. Som ensam representant för det rinnande vatten valdes *Hydropsyche* sp..

Det biologiska materialet har insamlats med Ekman-huggare och Rzoska-borr. Vid insamlandet och sorteringen gjordes inga försök att kvantitativt bestämma de olika djurgruppernas förekomst. I sjöns utloppsbäck kunde det önskades antalet av Hydropsyche lätt plockas från upphämtade stenar.

Vid den vidare bearbetningen av de insamlade djuren har två behandlingsmetoder följts.

Metod I: Efter utplockningen togs djuren direkt till en glas-homogenisator där de finfördelades. Därefter placerades materialet i en märkt folieask, vilken sedan ställdes i ett till 60°C tempererat värmeskåp. En normal, men ändå tillräcklig torkningstid för homogenisatet, antogs vara 24 timmar och efter denna tid flyttades folieasken över till en exiccator för att, i likhet med bensoesyran, sluttorka och svalna till rumtemperatur. I de fall analyser ej gjordes omedelbart kunde materialet förvaras i exiccatorn utan påvisbar nackdel.

Denna metod kunde emellertid på goda grunder misstänkas för en negativ påverkan av det insamlade materialet. Vid homogeniseringen kommer nämligen angreppsytan på exempelvis de förekommande fetterna och proteinerna att mångdubblas. Samtidigt sker det en fullständig genomluftning av det våta homogenisatet, vilket medför en motsvarande grad av oxidation. Av denna anledning testades en något förändrad metod, som fick följande förlopp.

Metod II: I motsats till metod I flyttades de insamlade djuren direkt över till den märkta folieasken, sedan allt överflödigt vatten fått rinna av på ett filterpapper. Därefter torkades djuren under 24 timmar i det 60°C värmeskåpet i likhet med metod I, flyttades till exiccatorn för att svalna och för eventuell förvaring. Innan analyserna utfördes på det torkade materialet, homogeniserades detta i en mindre porslinsdegel med en glasstav som mortel. De skillnader i analysresultatet som de båda metoderna har visat, kommenteras tillsammans med en redovisning av de olika djurgrupperna.

Av metodbeskrivningen ovan framgår att det inte gjorts någon korrektion med avseende på de insamlade djurens tarminnehåll. En till viss del "naturlig" korrektion kanske kan tillskrivas det faktum att djuren förvarades under någon timme i vattenledningsvatten och under denna tid säkerligen tömde en del av sitt tarminnehåll.

## RESULTAT

Asellus aquaticus: En bottenorganism, som genom sin bitvis stora abundans, tilldrar sig intresset vid beräkningen av en sjös produktion. I sammanhanget kan nämnas att Andersson (1969) har studerat livscykel och tillväxt på *Asellus aquaticus* i sjön Erken med speciell inriktning på de effekter som temperaturen har på artens produktion. Denna art är också känd som ett mycket betydelsefullt

näringsobjekt för ett flertal fiskarter. Det här analyserade materialet är till en mindre del hämtad från en damm i Uppsalas omgivning, för övrigt skedde insamlingen i sjön Erken.

Analysresultaten gav med metod I följande medelvärden i cal/g torrsvikt. Primärdata över de nedan återgivna analyserna i Appendix 1.

30.9-69 Medelvärde: 3400 cal/g (Uppsala)

Spridning: 12

Antal analyser: 4

23.10-69 Medelvärde: 3400 cal/g (Uppsala)

Spridning: 39

Antal analyser: 5

29.10-69 Medelvärde: 3700 cal/g (Erken)

Spridning: 215

Antal analyser: 5

En statistisk test gav ej någon signifikant skillnad mellan medelvärdena erhållna genom analys enl. metod I. Skillnaden i spridning mellan analyserna är av slumpmässig karaktär. Dessutom gjordes analyser enl. metod II, vilket gav följande resultat. Även dessa värden är uttryckt i cal/g torrsvikt.

30.1-70 Medelvärde: 3600 cal/g (Erken)

Spridning: 466

Antal analyser: 5

13.3-70 Medelvärde: 3900 cal/g (Erken)

Spridning: 208

Antal analyser: 5

Ej heller här föreligger signifikant skillnad mellan de två medelvärdena. Med tanke på biologin hos *Asellus aquaticus* där ett av karaktärsdragen är ett ständigt näringssök, kan man kanske våga den generaliseringen att det ej föreligger någon större tidsbunden variation av energiinnehållet per viktsenhet. Om så är fallet, bör man kunna testa en eventuell skillnad mellan de båda behandlingsformerna. För att erhålla den största möjliga informationen, är det lämpligt att gå tillbaka till de ursprungliga värdena från varje analystillfälle. Med hjälp av dessa framräknades medelvärde och varians för de två metoderna, som därefter testades på 5 % nivå. Vid testet av metod II mot metod I visade det sig, att ett signifikant värde på + 2,8 erhöles, vilket var över det kritiska värdet för  $t = + 2,074$ . Man kan under givna förutsättningar antaga, att de två behandlingsmetoderna ger olika resultat i kvarvarande energimängd och att metod II är att föredra framför metod I. Den statistiska signifikansen har som ovan nämnts, testats på 5 % nivå, en gräns som givetvis kan ifrågasättas i sin lämplighet vid statistisk behandling av ett biologiskt material.



Just från den biologiska sidan kan man emellertid också fastställa att metod II i varje fall inte kan vara sämre behandlingsform av materialet än metod I, oavsett det statistiska resultatet.

Chaoborus sp.: Larven av denna insekt förekommer tidvis pelagiskt levande och företar därvid vandringar mellan olika områden i vattenmassan. Dess betydelse som näringsdepå växlar starkt med typen på vattnet. Från en procentuellt sett mera sparsam förekomst i större sjöar, kan den i exempelvis små dammar och humösa tjärnar återfinnas i förhållandevis mycket stora mängder. En av flera bidragande orsaker till larvens tätare förekomst i den senare typen av vatten, torde vara att den under längre tid kan uthärda en vistelse i ett syrefritt vatten.

Analyserna gav enligt metod I följande resultat. Primärdata över analyserna i Appendix 2.

30.9-69      Medelvärde: 5400 cal/g      (Uppsala)  
                  Spridning: 254  
                  Antal analyser: 5

23.10-69     Medelvärde: 5400 cal/g      (Uppsala)  
                  Spridning: 139  
                  Antal analyser: 6

Analyserna utförda enligt metod II gav följande resultat.

6.2-70        Medelvärde: 5800 cal/g      (Uppsala)  
                  Spridning: 208  
                  Antal analyser: 5

13.3-70       Medelvärde: 5700 cal/g      (Erken)  
                  Spridning: 206  
                  Antal analyser: 5

18.3-70       Medelvärde: 5900 cal/g      (Uppsala)  
                  Spridning: 121  
                  Antal analyser: 5

Helt givet förekommer det ingen signifikant skillnad mellan metod I's båda medelvärden, då dessa som synes är av samma storlek. Ej heller metod II's medelvärden visar någon statistisk skillnad. Detta skulle kunna peka på att det inom metod I och metod II's aktuella provtagningsstid ej föreligger någon förändring av energimängden per viktsenhet. Om man gör det grovt generaliserande antagandet att det ej föreligger någon upplagring av energi från den 23.10-69 till den 6.2-70, skulle man kunna testa de båda behandlingsmetoderna mot varandra. Antagandet är emellertid inte orimligt, då ingen variation förekom inom tidsperioderna 30.9 - 23.10 och 6.2 - 18.3. Om de ovan givna förutsättningarna gäller, skulle en statistisk skillnad mellan metoderna tyda på att de olika behandlingarna påverkar materialet så,

att metod II har ett mindre energibortfall än metod I. I likhet med testningen av *Asellus aquaticus* användes även här primärdata för att framräkna medelvärde och varians för de två metoderna. Vid det därpå följande testet erhöles ett signifikant värde på + 4,8, vilket klart översteg det kritiska värdet på  $t = 2,065$ . Även i detta fall visade sig alltså metod II vara att föredra framför metod I.

Chironomus plumosus: Samtliga prov är tagna från sjön Erken på 16 till 18 meters djup, där denna djurgrupp är den helt dominerande. Då *C. plumosus* dessutom är en bland akvatiska insekter relativt storvuxen larv, inser man den betydelse larven har som näringsdepå vid de större djupen. Erkens chironomider har studerats både kvalitativt och kvantitativt av Sandberg (1969).

Analyserna gav med metod I följande resultat. Primärdata återfinns i Appendix 3.

29.10-69      Medelvärde: 4300 cal/g  
                   Spridning: 187  
                   Antal analyser: 5

Vid de senare försöken, som alla utfördes enligt metod II, har *C. plumosus* separerats i två storleksklasser, vilka i princip omfattar de båda generationerna, då den här har ett 2-årigt larvstadium. För enkelhetens skull har dessa båda kallats "små" resp. "stora".

30.1-70        Medelvärde: 5400 cal/g      (stora)  
                   Spridning: 223  
                   Antal analyser: 5

30.1-70        Medelvärde: 5300 cal/g      (små)  
                   Spridning: 208  
                   Antal analyser: 5

13.3-70        Medelvärde: 5400 cal/g      (stora)  
                   Spridning: 142  
                   Antal analyser: 5

13.3-70        Medelvärde: 5400 cal/g      (små)  
                   Spridning: 159  
                   Antal analyser: 5

Av de erhållna medelvärdena framgår att det ej föreligger skillnad i tidshänseende av energiinnehållet hos den undersökta arten från den 30.1 till den 13.3-70. Även här har den grova generaliseringen gjorts att det ej har förekommit någon större energiupplagring från den 29.10-69 till den 30.1-70. På denna grund har därefter medelvärde och varians framräknats för metoderna I resp. II och t-testet utförts. Resultatet blev som vid tidigare tillfällena en signifikant skillnad mellan metod II och metod I. Det kritiska värdet för  $t$  var 2,069, ett tal som låg klart under det erhållna på + 11,6.

Ephemera vulgata: Genom sitt levnadssätt kommer nymfen att vara förhållandevis svåråtkomlig för flertalet rovlevande bottendjur och fiskar. Den största betydelsen i näringskedjan torde insekten ha, då den stiger upp till ytan för att kläckas och efter honornas äggläggning, då de i stora mängder faller ner på vattenytan och där blir ett lätt åtkomligt byte för fisk. Inom ordningen Ephemeroptera är den också hos oss den största representanten, vilket givetvis förhöjer dess betydelse som näringsobjekt. Av flera samverkande orsaker har endast en insamling gjorts av detta djur. I gengäld har dock de båda metoderna blivit tillämpade vid analysen av materialet.

Analysmetod I gav följande resultat. Primärdata i Appendix 4.

29.10-69      Medelvärde: 4100 cal/g      (Erken)  
                   Spridning: 171  
                   Antal analyser: 6

Analyserna enligt metod II utfördes på torkade djur, varvid det ej gjordes något homogeniserat, utan varje förbränning innehöll en hel larv. Sammanlagt analyserades tre larver.

29.10-69      Medelvärde: 5000 cal/g      (Erken)  
                   Spridning: 300  
                   Antal analyser: 3

Trots det knapphändiga materialet visade det sig möjligt, att även på statistisk väg kunna få en värdering av behandlingsmetodernas inverkan på Ephemera vulgata. Metod II testades sålunda mot metod I, vilket resulterade i det klart signifikanta värdet + 5,9. I detta fall låg det kritiska värdet för t på 2,365. Utslaget av t-testet tyder på, att det föreligger en påtaglig skillnad i graden av energibortfall mellan de båda metoderna. Eftersom metod II har den minst energiförstörande effekten, är den alltså att föredra framför metod I.

Hydropsyche sp.: Denna art är, som tidigare nämnts, den enda representanten från rinnande vatten. Larven kan i fullvuxet stadium uppträda i täta kolonier, vilket gör att den på vissa lokaler kommer att stå för en stor del av den befintliga biomassan. Samtliga prover är tagna i utloppsbäcken från sjön Erken.

Analysmetod I gav följande resultat. Primärdata se Appendix 5.

29.10-69      Medelvärde: 5500 cal/g  
                   Spridning: 253  
                   Antal analyser: 5

Analysmetod II gav följande resultat.

30.1-70 Medelvärde: 6500 cal/g

Spridning: 223

Antal analyser: 5

13.3.-70 Medelvärde: 5700 cal/g

Spridning: 769

Antal analyser: 7

Det medelvärde, som bygger på analyser av materialet insamlat den 13.3-70, har som synes ett avsevärt lägre energital jämfört med föregående analysresultat. Dessutom skiljer sig spridningsfaktorn väsentligt mellan de båda analysomgångarna. Orsaken till detta kunde ej med säkerhet fastställas, men iakttagelser under försökets gång tyder på följande problematik: Under den aktuella tiden har larven en mycket stor uppsamlad fettdepå färdig att utnyttjas vid den kommande förpuppningen och utkläckningen. Vid framställningen av pelleten kommer den smala stålstaven att utöva ett mycket stort tryck på det homogeniserade materialet. Detta medför, att fettets trängs ut och ansamlar sig i små droppar på stålstaven och på väggarna i stålcyllindern. Resultatet av detta får anses vara orsaken till det låga medelvärdet vid analysomgången den 13.3. Dessutom bidrog den möjligheten, att några droppar av det energirika fettets kunde komma med från stålstav och cylinder vid tillverkningen av en ny pellet, till att spridningsfaktorn fick ett högt värde (769). Av denna anledning utfördes en ny analysomgång på samma material. Den väsentligaste skillnaden i behandlingen var, att pelleten tillverkades under ett tryck som var svagt men ändå tillräckligt för att provet skulle hålla ihop. Det erhållna medelvärdet får i jämförelse med föregående anses som tillfredställande.

13.3-70 Medelvärde: 6200 cal/g

Spridning: 108

Antal analyser: 5

En jämförelse mellan de båda metodernas medelvärden resulterar i ett signifikant utslag. Vid tanke på att det vid tidigare redovisade resultat alltid förekommit en skillnad mellan metod II och metod I, vågar man nog ställa det påståendet, att det föreligger en faktisk skillnad i de båda behandlingsmetodernas inverkan på materialet. Detta generella utslag får dessutom anses peka på, att metod II är att föredra vid behandlingen av alla biologiska material. Vid den aktuella testningen mellan metoderna, erhöles det signifikanta värdet 6,5, vilket även detta överstiger tabellvärdet på  $t$  som var 2,160.

## DISKUSSION

En av arbetets huvudpunkter var att finna en acceptabel metod för behandling av materialet före analysen, liksom att få en lämplig mall för utvärderingen av den sökta energimängden. Den vägledande målsättningen har därför varit, att provet på sin väg från lokal till analys skulle utsättas för så få energiförstörande moment som möjligt och att finna en arbetsmetod, som i praktiken skulle vara lätt att tillämpa laboratoriemässigt. Vad gäller bombkalorimeterns funktion finns givetvis inte mycket att förändra. En viss förbättring torde dock isoleringen av stålcyklindern som placeras över bomben ha inneburit. Samtidigt, som man får ett mindre tillskott av värme före provets antändning, kommer avgången att likaså bli minimal, då mikrobomben nått sin maximitemperatur. Dessutom blir det eventuella störande momentet, som luften runt mikrobomben innanför stålcyklindern skulle kunna ge upphov till, av reducerad storlek då det isolerande skiktet av frigolit upptar en relativt sett stor volym. För övrigt gäller, att analyserna bör utföras på ett från gång till gång likartat sätt, detta för att ge mellan proverna jämförbara resultat. Den tidigare beskrivna metoden för utvärdering av energimängden från den grafiska kurvan har visat sig ge med annan litteratur samstämmiga värden. De felkällor, i form av olika oxidativa processer, som är oundvikliga från insamligen av materialet till analystillfället är troligen av den storleksordningen, att den här föreslagna beräkningsmetoden inte kommer att störa helhetsintrycket av resultatet. Tillförlitligheten hos den genom regressionsanalysen erhållna ekvationen är vidare beroende av bombkalorimeterns arbetssätt över hela det aktuella registret. Phillipson (op. cit.) har visat, att det existerar ett gott linjärt samband från 4 till 86 mg bensoesyra. Detta motsvarar en variation från 0,2 till 4 mV. I detta arbete har utslaget varierat mellan 0,1 och 0,5 mV för det biologiska materialet och för referensekvationen mellan 0,1 och 0,4 mV. Då så varit möjligt har provernas viktsmängder anpassats så, att den grafiska bildens totala utslag legat i acceptabel närhet av referenskurvas mittpunkt. Detta gjordes för att utnyttja den egenskapen att regressionsanalysen har det bästa linjära sambandet vid de plottade punkternas medelvärde.

Vid testningen av det biologiska materialets behandlingsmetoder kunde i samtliga fall "konstateras" ett högre energivärde då metod II användes. Ur biologisk synvinkel förefaller detta resultat rimligt, då man undviker den genom våthomogeniseringen uppkomna ytförstoringen av de oxiderbara substanserna. En i detta arbete ej testad metod är att ersätta torkningen i värmeskåpet mot att frystorka materialet. Här skulle man undgå den felkälla, som den högre temperaturens inverkan på organismernas flyktiga föreningar innebär. Anledningen till att detta förfaringsätt inte tillämpats är helt enkelt, att det ej fanns tillgång till en frystork. Metod II kan givetvis med största lätthet modifieras så, att värmeskåpet byts mot en frystorksanläggning. Vad det gäller bensoesyran kan man utgå ifrån, att behandlingen i värmeskåpet inte medfört någon påverkan ur energisynpunkt och att referenskurvan därför fortfarande gäller.

Enligt en numera citerad teori (Kajak) skulle energivärdet vid beräkning av cal/g askfri torrsvikt i stort sett vara av samma storlek för de flesta djurgrupper. Med tanke på de olika djurens levnads-sätt, med representanter som *Asellus aquaticus* (3600 - 3900 cal/g), vilken ej i någon högre grad lagrar energirika ämnen utan har ett ständigt näringsök och dess motsats *Hydropsyche* (6200 - 6500 cal/g), vilken bygger upp en kraftig fettdepå inför den energi-krävande metamorfosen förefaller det dock troligt, att det existerar en till djurtypen - arten bunden energimängd per askfri torrsvikt. Denna problematik kan emellertid skjutas åt sidan då man genom att uttrycka energimängden per torrsviktsenhet erhåller en lätthanterlig formel för uppmultiplikering till de olika biotopernas sammanlagda energinnehåll. Samtidigt får man en uppfattning om relationen mellan energimängden och viktsmängden organiskt bunden substans, som ligger deponerad i den studerade biotopen. Dessa parametrar kan vara av betydelse som måttsenheter vid ett försök att få ett grepp om energiflödet genom de olika nivåerna liksom energiansamlingar och energiförluster.

Det knappa biologiska materialet i uppsatsen gör, att några mer definitivt hållna slutsatser inte kan uttalas. Vad som ändock framkommit är en skillnad mellan djurgrupperna, då man använder sig av kvoten cal/g torrsvikt, en skillnad som återfinns grafiskt avbildad i Fig. 4. Först på skalan uppenbarar sig *Asellus aquaticus* med ett energivärde omkring 3800 ( $V_b = 300$  cal/g), vilket får ses mot bakgrunden av att detta djur har en stor del av sin vikt i kitin, i vilket det finns inlagrade salter. Därefter följer *Ephemera vulgata* vid värdet 5000, även detta ett djur med en förhållandevis stor del skyddande kitinpansar. Som synes upptar arten endast ett värde på skalan. Detta beror på att det uppritade diagrammet helt bygger på de resultat, som erhållits med analys enligt modell II. Därefter på skalan återfinns *Chironomus plumosus*, som i sin variationsbredd (5300 - 5400 cal/g) ligger klart skild från *Chaoborus* (5700 - 5900 cal/g). Med det högsta energivärdet och således sist i raden av undersökta djurgrupper ligger *Hydropsyche*, vars kalorital varierar omkring 6400 ( $V_b = 300$  cal/g). De tre senaste gruppernas position kan delvis ha sin förklaring i en mindre andel yttre skellet av totalvikten. Dessutom har dessa djur ett behov av en energireserv för sin metamorfos i samband med utkläckningen.

Arbetets problemställning har varit att studera mikrobombkalorimeterns funktion. Resultatet får anses peka på, att en förnuftig behandlingsmetod av det insamlade tillsammans med ett kontrollerat analysförfarande mycket väl kan tjäna som ett medel att närma sig olika produktionsaspekter inom varierande biotoper. Fördelen skulle vara att få en gemensam enhet för energimängden, exempelvis i kalorier per viktsenhet, i vilken de olika nivåerna kunde uttryckas. Det är givetvis inte nödvändigt att begränsa sig till ett material av animaliskt ursprung, utan det är även möjligt att mäta energimängden hos exempelvis växter och sediment.

## SAMMANFATTNING

Under hösten 1969 och våren 1970 studerades funktionen hos en mikrobombkalorimeter enligt Phillipson (1964).

Arbetets huvudinriktning var att söka en metodik, som lämpade sig vid analys av ett biologiskt material.

Vid upprättandet av referensekvationen användes bensoesyra som standard. Den matematiska beräkningen utfördes med hjälp av regressionsanalys. En kontroll av punkternas linjära sammanhållning erhöles genom uträkning av korrelationskoefficienten, som visade sig ha det tillfredsställande värdet av 0,9982.

Vid den mer praktiskt inriktade delen av arbetet gjordes energimätningar på *Asellus aquaticus*, *Chaoborus* sp., *Chironomus plumosus*, *Ephemera vulgata* och *Hydropsyche* sp..

Två metoder användes vid behandlingen av det biologiska materialet och dessa testades därefter mot varann på 5 % nivå. I samtliga fall utföll testet så, att det förelåg ett signifikant högre energivärde hos det material, som behandlades enligt metod II.

Resultatet av arbetet tyder på, att denna mikrobombkalorimeter mycket väl lämpar sig för energimätningar. Det är möjligt att förutom djur även analysera växtmaterial och sediment.

## ERKÄNNANDE

Den problematik som under arbetets gång kommit i dagen, har på ett förtjänstfullt sätt kunnat diskuteras med övriga bottenfaunister vid Uppsala universitets Limnologiska institution. Därvid har många värdefulla uppslag och synpunkter kommit mig tillhanda. Speciellt riktar sig mitt tack till min handledare fil.lic. Gösta Sandberg och till fil.kand. Gösta Kjellberg, som varit mig till hjälp vid insamlandet av materialet. Samtidigt ber jag att få rikta ett tack till fil.kand. Göran Lithner, som gav mig den första sakkunniga instruktionen på den i arbetet använda mikrobombkalorimetern.

## LITTERATUR

- Andersson, E. 1969. Life-cycle and growth of *Asellus Aquaticus* (L.). - Rep. Inst. Freshw. Res., Drottningholm 49.
- Brawn, V.M., D.L. Poor and R.J. Bentley, 1968. Caloric content of the standing crop of benthic and epibenthic invertebrates of St. Margaret's Bay, Nova Scotia. - J. Fish. Res. Bd. Canada, 25 (9): 1803-1811.

- Geng, H. und G.S. Karsinkin 1954. Der Nährwert der Chironomidenlarven. - Binnengewässer, XX: 657-662.
- Golley, F.B. 1961. Energy Values of Ecological Materials. - Ecology 42: 581-584.
- Moshiri, G.A. and K.W. Cummins, 1969. Calorific values for *Leptodora kindtii* Focke (Crustacea, Cladocera) and selected food organisms. - Arch. Hydrobiol. 66: 91-99.
- Nauwerck, A. 1963. Die Beziehungen zwischen Zooplankton und Phytoplankton im See Erken. - Symb. bot. upsal. 17:5.
- Paine, R.T. 1964. Ash and Calorific Determination of Sponge and Opisthobranch Tissue. - Ecology 45: 384-387.
- Phillipson, J. 1964. A Miniature Bomb Calorimeter For Small Biological Samples. - Oikos 15: 130-139.
- Sandberg, G. 1969. A quantitative study of chironomid distribution and emergens in Lake Erken. - Arch. Hydrobiol. Suppl. 35: 119-201.
- Sitaramaiah, P. 1967. Water, Nitrogen and Calorific Values of Freshwater Organisms. - J. du Conseil 31: 27-30.
- Slobodkin, L.B. and S. Richman, 1961. Calories/gm in Species of Animals. - Nature, Lond. 191: 299.
- Wissing, T.E. and A.D. Hasler, 1968. Calorific values of some invertebrates in Lake Mendota, Wisconsin. - J. Fish. Res. Bd. Canada, 25 (11): 2515-2518.

**SUMMARY: ON CALORIFIC DETERMINATIONS USING A MINIATURE BOMB CALORIMETER.**

In the autumn 1969 and spring 1970 the function of a miniature bomb calorimeter according to Phillipson (1964) was studied. Major emphasis was on evaluation of a method permitting analysis of biological material.

On establishing the reference equation benzoic acid was employed as a standard. The statistical treatment was carried out by regression analysis. A control of the linear concord of the points was obtained by calculating the coefficient of correlation, which was 0,9982.

The applied part of the work concerned energy content measurements on Asellus aquaticus, Chaoborus sp., Chironomus plumosus, Ephemera vulgata and Hydropsyche sp.

Two methods were used for treating the biological material and these methods were compared statistically. All tests indicated a significantly higher value of energy of the material treated according to Method II.

The results indicate that this miniature bomb calorimeter is well suited for energy measurements. Also, not only animal tissues may be analysed, but plants and sediments as well.



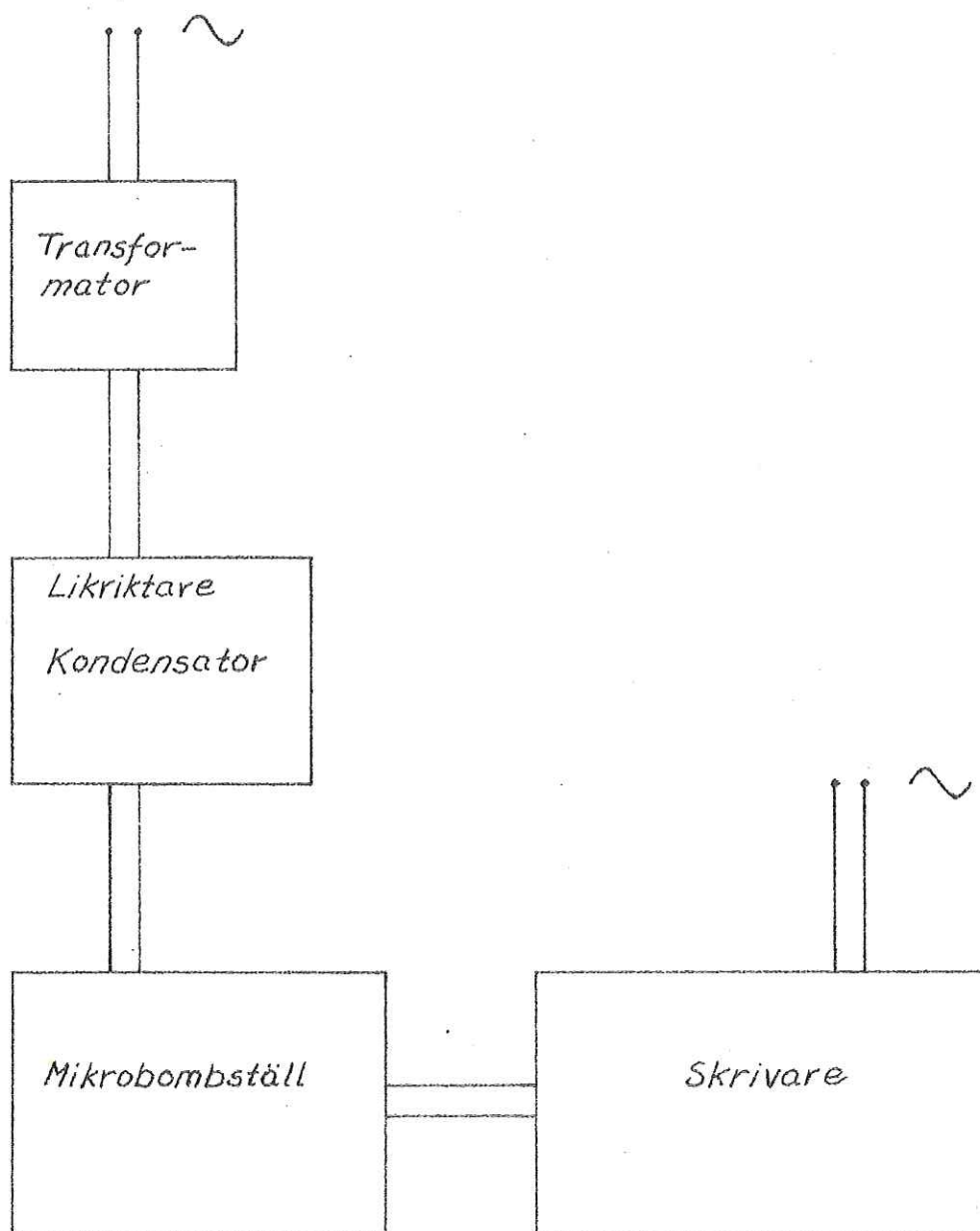


Fig. 1. Schematisk bild över mikrobombkalorimeterns enheter och den grafiske skrivaren.

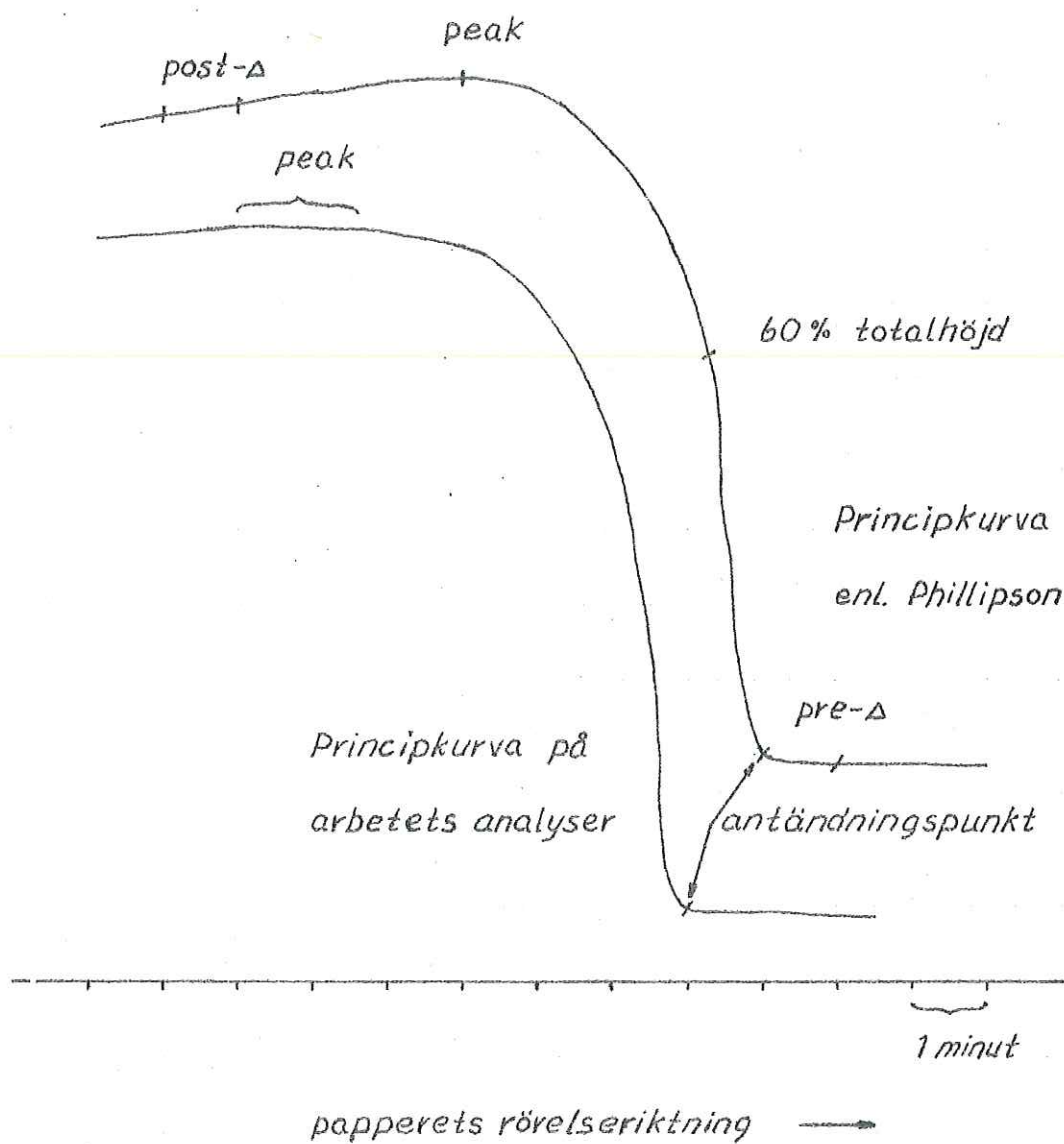


Fig. 2. Principskisser av förbränningen, den övre kurvan enligt Phillipson den undre av den typ, som förekom vid detta arbetes analyser.

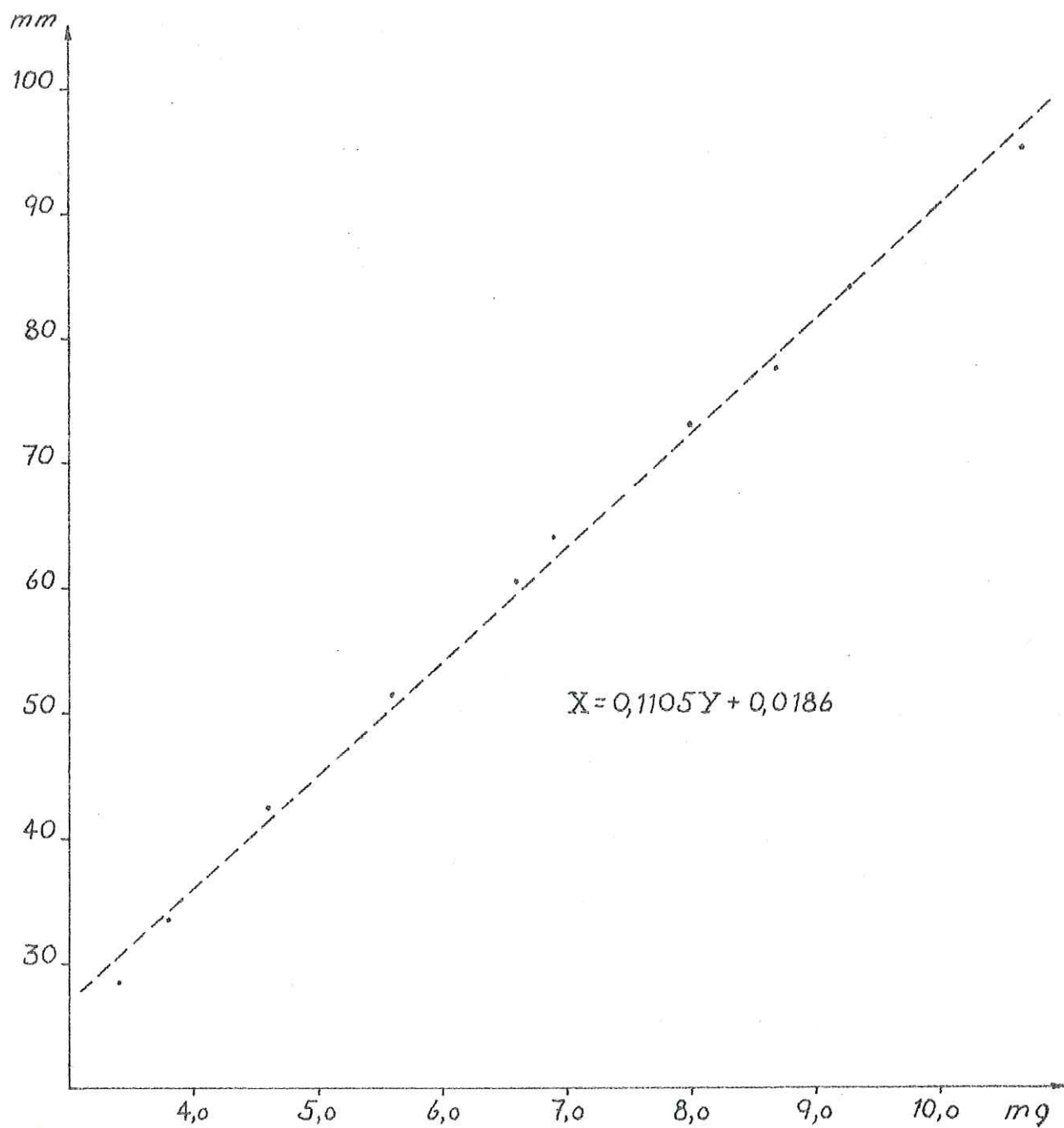
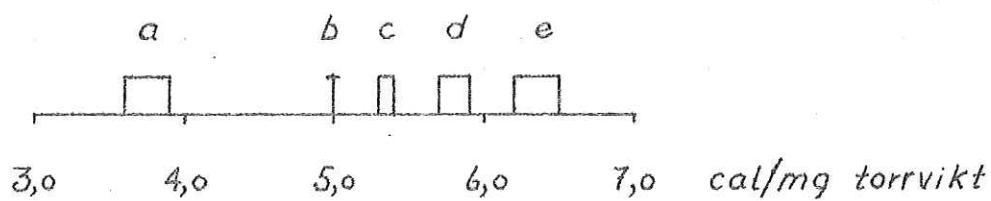


Fig. 3. Diagram med punkterna som utgör bakgrund till referensekvationen inbricade. Korrelationskoefficienten är 0,9982.



a, *Asellus aquaticus*

b, *Ephemera vulgata*

c, *Chironomus plumosus*

d, *Chaoborus sp.*

e, *Hydropsyche sp.*

Fig. 4. Den grafiska bilden av energimängderna hos de fem undersökta djurgrupperna. Bredden på rektanglarna motsvarar storleken på variationsbredden.

## PRIMÄRDATA

## Appendix 1.

Asellus aquaticus

## Metod I.

30.9-69	1. 3388 cal/g	23.10-69	1. 3392 cal/g
	2. 3398 -"-		2. 3457 -"-
	3. 3368 -"-		3. 3331 -"-
	4. 3398 -"-		4. 3316 -"-
			5. 3386 -"-

29.10-69	1. 4011 cal/g
	2. 3459 -"-
	3. 3777 -"-
	4. 3452 -"-
	5. 3799 -"-

## Metod II.

30.1-70	1. 3612 cal/g	13.3-70	1. 4189 cal/g
	2. 3619 -"-		2. 4101 -"-
	3. 3507 -"-		3. 3780 -"-
	4. 3622 -"-		4. 3684 -"-
	5. 3544 -"-		5. 3723 -"-

## Appendix 2.

Chaoborus sp.

## Metod I.

30.9-69	1. 5794 cal/g	23.10-69	1. 5599 cal/g
	2. 5372 -"-		2. 5377 -"-
	3. 5046 -"-		3. 5174 -"-
	4. 5354 -"-		4. 5292 -"-
	5. 5613 -"-		5. 5467 -"-
			6. 5398 -"-

## Metod II.

6.2-70	1. 5675 cal/g	13.3-70	1. 5746 cal/g
	2. 6178 -"-		2. 5562 -"-
	3. 5823 -"-		3. 5995 -"-
	4. 5562 -"-		4. 5703 -"-
	5. 5819 -"-		5. 5376 -"-
18.3-70	1. 5834 cal/g		
	2. 5941 -"-		
	3. 6010 -"-		
	4. 5952 -"-		
	5. 5666 -"-		

## Appendix 3.

Chironomus plumosus

## Metod I.

29.10-69	1. 3988 cal/g
	2. 4214 -"-
	3. 4470 -"-
	4. 4132 -"-
	5. 4455 -"-

## Metod II.

30.1-70	1. 5575 cal/g (stora)	30.1-70	1. 5205 cal/g (små)
	2. 5806 -"-		2. 5046 -"-
	3. 5252 -"-		3. 5345 -"-
	4. 5302 -"-		4. 5656 -"-
	5. 5233 -"-		5. 5177 -"-
13.3-70	1. 5183 cal/g (stora)	13.3-70	1. 5681 cal/g (små)
	2. 5473 -"-		2. 5254 -"-
	3. 5381 -"-		3. 5360 -"-
	4. 5532 -"-		4. 5301 -"-
	5. 5197 -"-		5. 5265 -"-

## Appendix 4.

Ephemera vulgata

## Metod I.

29.10-69	1.	4070 cal/g
	2.	4132 -"-
	3.	4201 -"-
	4.	3995 -"-
	5.	4322 -"-
	6.	3778 -"-

## Metod II.

29.10-69	1.	4669 cal/g
	2.	5395 -"-
	3.	4911 -"-



## Appendix 5.

Hydropsyche sp.

## Metod I.

29.10-69	1.	5116 cal/g
	2.	5340 -"-
	3.	5847 -"-
	4.	5636 -"-
	5.	5587 -"-

## Metod II.

30.1-70	1.	6131 cal/g	13.3-70	1.	6408 cal/g
	2.	6801 -"-		2.	6188 -"-
	3.	6648 -"-		3.	6132 -"-
	4.	6576 -"-		4.	6232 -"-
	5.	6506 -"-		5.	6097 -"-
13.3-70	1.	5022 cal/g			
	2.	6227 -"-			
	3.	5966 -"-			
	4.	4230 -"-			
	5.	6341 -"-			
	6.	5324 -"-			
	7.	6493 -"-			