

Die Sauerstoffelektrode

Thema

Polarographische Messung der Sauerstoffproduktion von Hefezellen in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration mit Hilfe der Sauerstoffelektrode

Ablauf des Versuches

Folgendes wird in diesem Praktikumsblock von uns geleistet werden:

- Vorbereitung der Sauerstoffelektrode
- Aufnahme der Atmungsaktivität von Hefezellen bei verschiedenen Glucosekonzentrationen
- Erstellung einer Substratsättigungskurve und Bestimmung von V_{\max} und K_m
- Messung der Atmungsaktivität bei konstanter Substratmenge zu unterschiedlichen Temperaturen

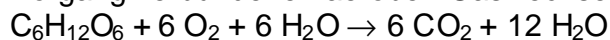
Vermutung: Der Verbrauch an Sauerstoff wird zunächst proportional zur Glucosekonzentration ansteigen, bis eine Sättigung durch das Substrat erreicht ist

Einführung

Atmung bei Hefezellen

Hefen sind fakultative Anaerobier. Dies bedeutet, dass sie sowohl bei anaeroben, als auch bei aeroben Verhältnissen Energie gewinnen können. Die Energieausbeute bei der Gärung mit nur 2 mol ATP pro mol Glucose ist sehr viel geringer als die stammesgeschichtlich neuere Form der Energiegewinnung, der Atmung. Bei der Atmung (Glycolyse, Oxidative Decarboxylierung der Brenztraubensäure, Citronensäurezyclus und Endoxidation) werden nämlich pro mol Glucose bis zu 36mol ATP gewonnen.

Die Atmung (= CO_2 -Dissimilation), ein stark exergoner Prozeß ($\Delta G^0 = -2872 \text{ kJ/Mol Glucose}$), lässt sich durch folgende Bruttogleichung wiedergeben, die den mit diesem Vorgang verbundenen aeroben Gaswechsel deutlich macht:



Die Oxidation von Glucose läuft im Rahmen der Dissimilation bei autotrophen und heterotrophen Organismen ab. Entscheidend für die polarographische Sauerstoffmessung ist der Prozess an der Atmungskette in den Mitochondrien, welcher die meiste Energie der gesamten Dissimilation freisetzt. Wenn nämlich an der inneren Mitochondrienmembran der Wasserstoff (von $\text{NADH}+\text{H}^+$) nach Elektronenabgabe an die Redoxsysteme mit elementarem Sauerstoff zu Wasser reagiert. Genau dieser Sauerstoffverbrauch wird von der Sauerstoffelektrode nach dem folgenden Prinzip gemessen.

Prinzip der Sauerstoffelektrode

Biochemische Reaktionen, an denen Gase beteiligt sind, wurden früher manometrisch mit Hilfe der Warburg-Apparatur verfolgt. Ein modernes Verfahren ist die Messung der Sauerstoffproduktion mit einer Sauerstoffelektrode.

Zur polarographischen Messung von Sauerstoff mit dem Oxygen-Meter Typ Clark verwendet man als Kathode eine Platinelektrode, als Anode eine Ag/AgCl-Elektrode. Man hält die angelegte Spannung konstant (~700mV) und misst den Strom, der proportional zur Sauerstoffkonzentration ist. Das Prinzip einer solchen Messkette zeigt die folgende Abbildung.

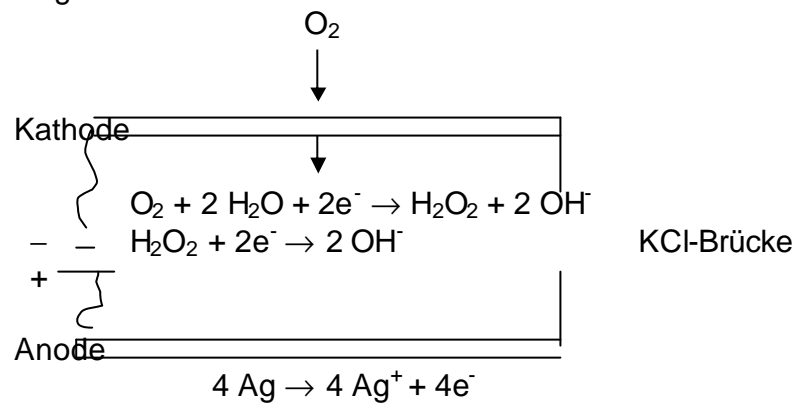


Abb. 1: Messprinzip der polarographischen Sauerstoffbestimmung

Bei dem von uns benutzten Typ der Sauerstoffelektrode (Clark-Elektrode) tauchen beide Elektroden (Platinkathode und Silberanode) in die gleiche konzentrierte KCl-Lösung ein und sind durch eine sauerstoffdurchlässige Teflonmembran (Dicke ca. 12 Mikrometer) von der Reaktionslösung getrennt.

An der Kathode wird der Sauerstoff in der Lösung durch Elektronenaufnahme reduziert. Die bei der Silberoxidation an der Anode entstandenen Elektronen wandern nun zur Kathode um das Elektronen-defizit auszugleichen und erzeugen einen messbaren Stromfluss. Der zwischen den Elektroden fließende Strom wird mit dem Amperemeter gemessen und mit einem Schreiber registriert

Bespannung:

Einen Tropfen 3M KCl-Lsg. auf die Kuppe der Elektrodenscheibe geben (soll "sitzen bleiben").

Mit einer Pinzette das Papier und die Membran auf den Tropfen legen und anschließend die Rille

mit ausreichend KCl-Lsg. füllen (Spacer muß später eintauchen !). Den Dichtungsring (O-Ring)

auf den Applikator stecken (ggf. schrauben) und dann den Applikator kräftig senkrecht auf die

Kuppe der Elektrodenscheibe pressen, wodurch der Dichtungsring in der Rille steckt und beide

Membranen hält. Der Applikator kann nun entfernt werden.

Aufbau der Komponenten

- Die Reaktionskammer mehrfach mit destilliertem Wasser spülen
- Fuß und Reaktionskammer ineinander schrauben
- Den Spezialrührfisch in die Kammer geben
- Die Apparatur auf die Magnetrührplatte von Bachofer stellen
- Die Control Box mit dem Netzgerät in Betrieb nehmen
- Schreiber, Messgerät und Control Box untereinander verbinden
- Reaktionskammer mit der Control Box verbinden
- Das Wasserbad mit den entsprechenden Schläuchen installieren und auf 30°C temperieren

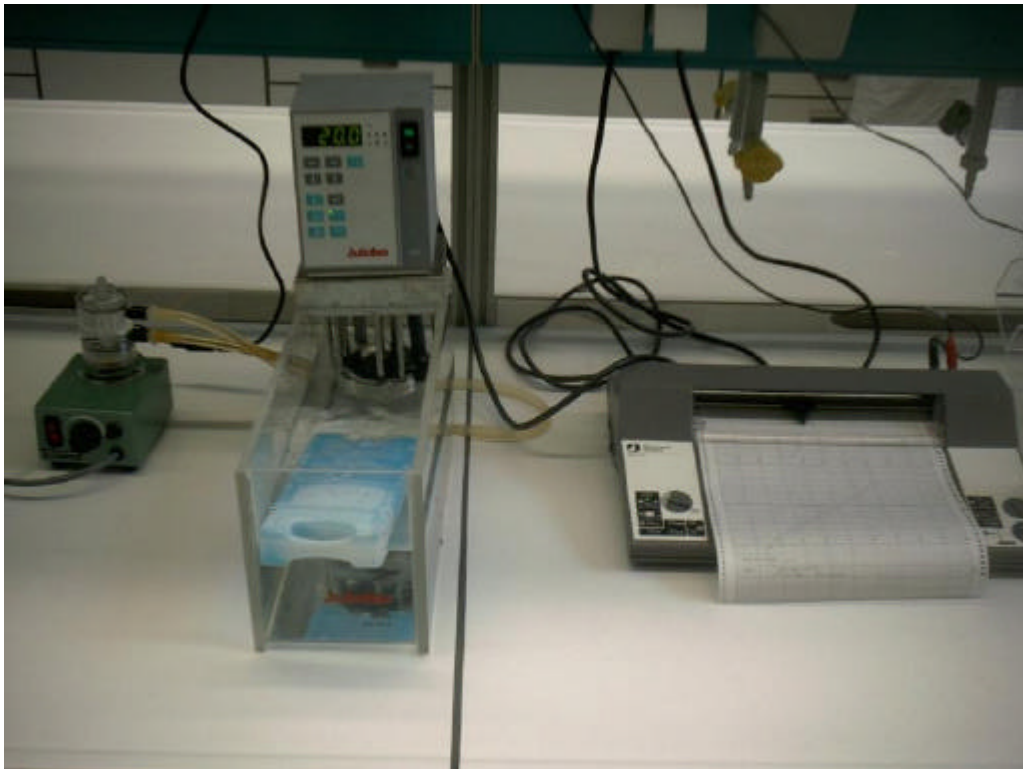


Abb.3: O₂Elektrode, Wasserbad und Schreiber

2. Abstimmung von Aufzeichnungsgerät (Schreiber) und Messgerät (Control Box)

Zu allererst muss der Schreiber geeicht werden, d.h. der Nullwert in sinnvollem Maßstab auf dem Schreiberpapier festgelegt werden. Um den Nullwert einzustellen, geht man wie folgt vor:

- Die Schreibernadel wird so am rechten Rand positioniert (90%-Marke), dass noch ausreichend Platz ist, um ggf. ins negative nach rechts (die positive O_2 -Zunahme wird nach links gemessen) ausschlagen zu können (Stelle markieren).
- Der Nullpunkt wird dem Gerät durch Betätigung der "Zero"-Taste eingegeben.

Nun kann die Control Box in Betrieb genommen werden. Die Einstellungen sind:

Output = 1x

Feinregulierung maximal rechts

Back off = cancel

Vor der Eichung der Elektrode muss getestet werden, ob die Elektrodenscheibe noch intakt ist. Ist die Scheibe richtig bespannt und intakt wird nach Befüllung mit Aqua dest. innerhalb 1h ein konstanter Stromfluss zu messen sein. Ist dies der Fall, kann die Elektrode wie folgt geeicht werden (Back-off zur Unterdrückung des Dunkelstroms auf "on"):

- Eine undefinierte Menge Aqua dest. (entspricht 100% O_2 -Sättigung) wird in die Reaktionskammer gegeben und die Schreibernadel mittels Feinregulierung an der Control Box in den Messbereich geholt. Ist der Stromfluss konstant, kann dieser Wert als 100% Marke markiert werden.
- Nach Zugabe einer Spatelspitze Natriumdithionit in die Reaktionskammer wird der enthaltene Sauerstoff gebunden, wodurch der Sauerstoffgehalt und proportional zu diesem der Stromfluss absinkt.
- Nun wird mittels "coarse" und "fine" und der Control Box die Anzeige auf null gestellt. Optimalerweise sollte dieser Nullwert an der Control Box mit dem Nullwert am Schreiber übereinstimmen (Kontrolle mit "Zero"-Taste am Schreiber)

Auf Grund der Reproduzierbarkeit dieses Versuches muss diese Prozedur solange wiederholt werden, bis die Nullwerte von Mess- und Aufzeichnungsgerät übereinstimmen. Hierbei ist der natürliche Drift der Elektrode miteinzubeziehen.

3. Berechnung der benötigten Lösungen

Als Puffersystem für die Hefezellen soll eine 0,02M KH_2PO_4 -Lsg. dienen, wobei der Feststoff in isotonischer Kochsalzlösung (0,9%) gelöst und anschließend mit der alkalischen Seite des Phosphates in Form von 2M K_2HPO_4 auf einen pH-Wert von 6,6 eingestellt werden soll. Außerdem wird eine 0,1 M Glucoselösung als Substrat für die Hefezellen benötigt

Für die einzelnen Komponenten müssen folgende Mengen Feststoff eingewogen werden:

NaCl: $V = 250\text{ml}$, $w = 0,9\%$
 $m = (V * w) / 100 = 2,25\text{ g}$

KH_2PO_4 : $V = 0,25\text{L}$, $M = 136,09\text{g/mol}$, $c = 0,02\text{mol/L}$
 $m = M * c * V = 0,6805\text{ g}$

K_2HPO_4 : $V = 0,1\text{L}$, $M = 174,18\text{g/mol}$, $c = 2\text{mol/L}$
 $m = M * c * V = 34,836\text{ g}$

Glucose: $V = 0,1\text{L}$, $M = 188,17\text{g/mol}$, $c = 0,1\text{mol/L}$
 $m = M * c * V = 1,882\text{ g}$

Versuchsdurchführung

Messung der Atmungsaktivität der Hefezellen bei verschiedenen Substratkonzentrationen

Vorbereitung der Hefe (Tag 1)

1. 250ml NaCl-Lösung in einem Messkolben herstellen.
2. Die errechnete Menge KH_2PO_4 mit der NaCl-Lsg. in einem Becherglas lösen
3. 100ml K_2HPO_4 -Lsg. in einem Messkolben herstellen.
4. Die KH_2PO_4 -Lsg. am geeichten pH-Meter mit K_2HPO_4 auf einen pH-Wert von 6,6 einstellen
5. 1g Hefe abwiegen und in 99ml Puffer mit Hilfe eines Rührfisches und einem Magnetrührer resuspendieren.
6. Die Suspension in eine Waschflasche geben und mit einer Aquarienpumpe durch konstante Sauerstoffzufuhr die Hefezellen über Nacht "aushungern".

Messung (Tag 2)

7. 1,2ml Puffer im Reaktionsgefäß vorlegen und den Magnetrührer einschalten.
8. 0,3ml Hefesuspension dazugeben und die Reaktionskammer mit dem Kolben blasenfrei verschließen
9. Die Schreiberaufzeichnung (Papiervorschub = 0,2mm/s) starten.
10. Zeigt der Schreiber eine senkrechte Linie (= konstanter Sauerstofflevel), so kann mit Hilfe der Mikrospritze ein bestimmtes Volumen an Glucoselösung (siehe Ergebnis) durch den Kolben mit der Mikroliterspritze in die Reaktionskammer gegeben werden.
11. Sobald eine lineare Sauerstoffabnahme über einen kurzen Zeitraum aufgezeichnet wurde, kann die Messung beendet werden.
12. Die Probenkammer mehrfach mit Aqua dest. (besser noch Puffer) reinigen.
13. Schritt 7-13 einige Male (5-10x) mit verschiedenen Glucosevolumina und ggf. anderer Hefekonzentration (siehe Ergebnis) durchführen.
14. Den Zelltiter des Ansatzes mit Hilfe der Thomakammer berechnen (ggf. verdünnen).

Ergebnis

Bestimmung des Zelltiters

Ein Tropfen des Reaktionsgemisches (1,5ml davon 0,5ml Hefe) wurde nach einer 1:10-Verdünnung mit Puffer unter der Thomakammer am Mikroskop begutachtet. Die Auszählung eines Kleinquadrates (Bild1) ergab 54 Zellen, was ($54 \cdot 16 =$) 864 Zellen pro Großquadrat ergibt.

Der Umrechnungsfaktor (x) orientiert sich an der Fläche der Thomakammer und der Höhe der Kammer:

$$h = 0,2\text{mm}$$

$$A = 0,0625\text{ mm}^2$$

$$\text{Volumen eines Kleinquadrates: } h \times A = 0,0125\text{mm}^3$$

$$\text{Volumen eines Großquadrates: } 16 \times V_{\text{KQ}} = 0,2\text{ mm}^3$$

$$x = 1000\text{mm}^3 / V_{\text{GK}} = 5000$$

Die Hefe wurde vor der Messung nochmals 1:10 verdünnt (Faktor 10). Dies ergibt eine tatsächliche Zellzahl von ($864 \times 10 =$) 8640 Zellen pro Großquadrat. Multipliziert mit dem Umrechnungsfaktor ergibt sich ein Zelltiter von ($8640 \times 5000 =$) $4,32 \times 10^7$ Zellen/ml im Reaktionsansatz

[Bild fehlt]

7.2 Graphen für die Bestimmung der Kinetik

Der erste Graph wurde mit der vorgegebenen Hefe/Puffer-Menge von 1,3ml Puffer und 0,2ml Hefe erstellt. Da uns die Steigung zu undeutlich für weitere Auswertungen war, entschlossen wir uns für alle weiteren polarographischen Messungen eine Hefe/Puffer-Menge von 1,0ml Puffer und 0,5ml Hefe zu verwenden. Die für die Berechnung der Kinetik relevanten Graphen sind daher die Kurven 2-8 der folgenden Seiten.

Bei allen Graphen wurde der zuvor ermittelte Eichbereich von 0-100% O₂-Sättigung von mir per Hand nachgetragen, um im weiteren Verlauf eine Bestimmung der Steigung zu ermöglichen.

Es folgen nun die für die Kinetik der Hefe relevanten Graphen (und der erste Graph, dessen Steigung nicht mit in die Berechnung einbezogen wird).

Beurteilung der Graphen

Allgemein ist schon mit dem blossen Auge festzustellen, dass die Atmungsintensität, also der Verbrauch an Sauerstoff pro Minute, mit steigender Glucosekonzentration zunimmt. Dies wird mit zunehmender Substratkonzentration immer deutlicher, was wahrscheinlich daran liegt, dass die Hefezellen zu Versuchsbeginn zunächst damit beginnen mussten, ihren Enzymhaushalt auf das plötzliche Angebot an Substrat einzustellen. Ohne das nächtliche "Aushungern" hätten die Hefezellen ihre eigenen Glucosespeicher in Form von Glycogen für die Atmung genutzt, was zu keinem reproduzierbarem Ergebnis geführt hätte. Die Umstellung von anaeroben auf aeroben Stoffwechsel bei der Hefe (welchen wir über Nacht erweckten) wird auch Pasteur-Effekt genannt.

Der schnelle Abfall der O₂-Konzentration im Reaktionsansatz zum Start der Messung bei manchen Graphen (2,3,5,6,7) hängt damit zusammen, dass der Schreiber den Austausch von O₂-gesättigtem Aqua dest. zu (weniger gesättigter) Hefe und Puffer noch kurz mit aufgezeichnet hat. Im allgemeinen folgt dann ein senkrechter Kurvenverlauf, was für eine konstante O₂-Konzentration spricht.

Nach der Zugabe der Glucose (in allen Graphen durch ein "x" gekennzeichnet) bei einer konstanten Sauerstoffkonzentration konnte bei allen Graphen ein Absinken der O₂-Konzentration beobachtet werden. Die Messung wurde jeweils nach Erreichen eines linearen Abfalls der Sauerstoffkonzentration beendet.

Berechnungen zur Kinetik der Hefezellen

Ziel dieser kinetischen Berechnungen soll es sein, zunächst den prozentualen Verbrauch an O₂/min (= Steigung) jeder Messreihe und dann im folgenden durch diese Ergebnisse den K_m-Wert des Enzyms zu ermitteln, welches die Glucose umsetzt.

Zunächst muss der Messbereich von 0-100% auf eine Strecke in cm umgerechnet werden. Die Länge des Messbereiches beträgt 15,5cm. Per Dreisatz berechnen wir die prozentuale O₂-Konzentration pro cm:

15,5cm ----- 100%

1cm ----- x %

? (100% × 1cm) / 15,5cm = 6,45%

Das bedeutet, dass die Strecke von 1cm im Graphen der Veränderung der O₂-Sättigung von 6,45% entspricht.

In den Graphen (S.7-10) wurde im linearen Bereich (wichtig für die spätere Anwendbarkeit der Michaelis-Menten-Kinetik) ein Steigungsdreieck erstellt und die jeweiligen Strecken der Katheten (= ?x und ?y) ausgemessen. Die x-Achse entspricht in unserem Fall der Zeit und die y-Achse der prozentualen Sauerstoffsättigung. Da bei allen Messungen die Geschwindigkeit des Papiervorschubes (= chart speed) bei 0,2mm/s (? 0,2 × 60 = 12mm/min) lag, muss jeweils die gemessene Strecke von ?x durch diesen Wert geteilt werden, um die gemessene Strecke in eine Zeit (in min) umzurechnen.

Durch Multiplikation mit der gemessenen Strecke für ?y mit 6,45% wird diese Strecke in einen prozentuale O₂-Sättigung umgerechnet.

Der folgende Rechenweg soll exemplarisch für alle weiteren stehen, weshalb im Nachhinein nur die Ergebnisse genannt werden

?x = 2cm ? 20mm / 12mm = 1,7 min

?y = 1,2cm × 6,45% = 7,74%

?y 7,74%

---- = ----- = 4,553 %O₂ pro min

?x 1,7min

Atmungsaktivität der Hefe

Glucosevolumen 0,1M in μl	Steigung in % O_2 pro min
5	4,553
10	6,829
15	7,588
20	7,209
25	13,158
30	13,849
40	15,935

Tab.1: Berechnete Steigungen zu den Glucosekonzentrationen

Bei genauerer Betrachtung der Steigungen fällt auf, dass unsere anfängliche Vermutung, nämlich dass die O_2 -Konzentration bis zur Substratsättigung konstant steigt, durchaus zutrifft.

Lässt man den Messwert für 20 μl Glucose (welcher nicht in dieses Bild passt) aussen vor, wird erkennbar, dass bis zu einer Substratmenge von ungefähr 25 μl Glucose die O_2 -Sättigung deutlicher zunimmt als nach diesem Wert (Erklärung dieses Effektes siehe Diskussion)

Für anschließende Zusammenhänge ist die Berechnung der Glucosekonzentration im Ansatz sinnvoll:

Der folgende Rechenweg ist wieder äquivalent für die weiteren Stoffmengenberechnungen

Stoffmenge Glucose = 0,1 mol/L = 0,1 $\mu\text{mol}/\mu\text{l}$ in der Stammlösung

5 μl \times 0,1 $\mu\text{mol}/\mu\text{l}$ = 0,5 μmol (als zugegebene Menge)

Gesamtvolumen Reaktionsansatz: 1,505 μl

1,505 μl ----- 0,5 μmol Glucose

1,000 μl ----- x μmol Glucose

$x = (0,5 \mu\text{mol} \times 1,0 \text{ml}) / 1,505 \mu\text{l}$

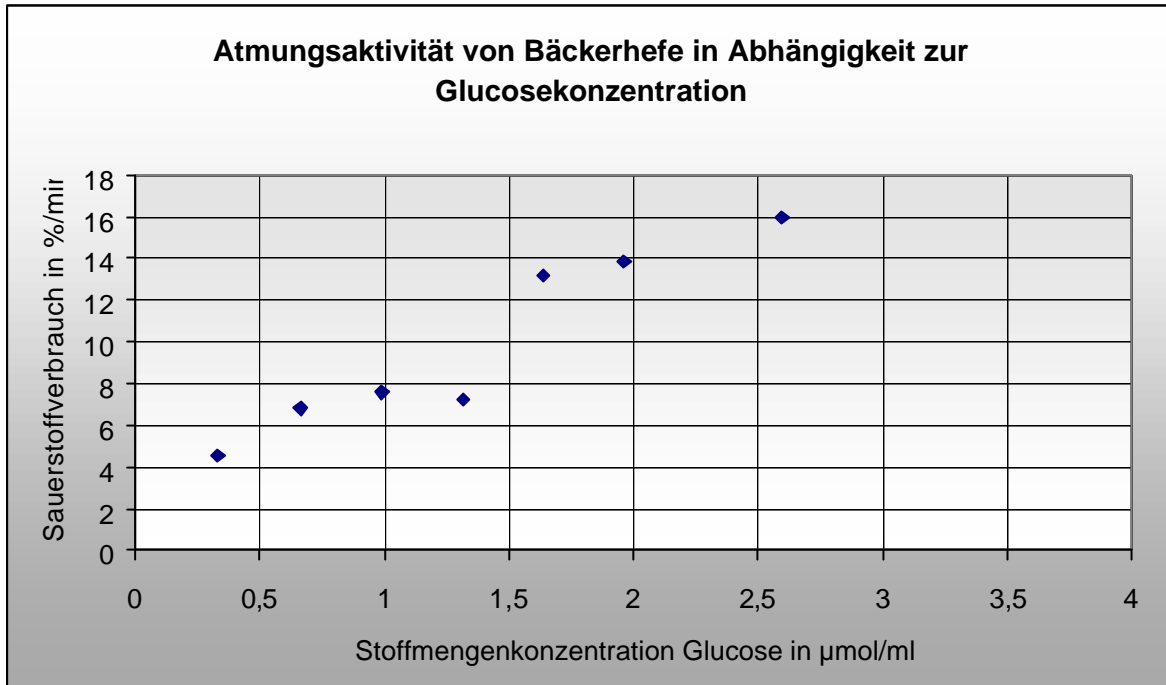
$x = 0,332 \mu\text{mol}/\mu\text{l} = 0,332 \text{ mol/L}$

Glucosevolumen 0,1M in μl	Stoffmengenkonzentration im Ansatz in mol/L
5	0,332
10	0,662
15	0,990
20	1,316
25	1,639
30	1,961
40	2,597

Tab.2: Stoffmengenkonzentration der Glucose im Reaktionsansatz

Um nun im weiteren Verlauf die kinetische Analysen durchzuführen (also die halbmaximale Reaktionsgeschwindigkeit und den K_M -Wert zu bestimmen), muss

zunächst eine Substratsättigungskurve mit dem O₂-Verbrauch der Hefezellen in Abhängigkeit zur Stoffmengenkonzentration erstellt werden:



Graph.1: O₂-Verbrauch von Hefezellen in Abhängigkeit von der Glucosekonzentration

Bestimmung von K_M und V_{max}

Zur Bestimmung des K_M -Wertes (welcher ein Maß für die Affinität eines Enzyms zum einem Substrat angibt) wurde die Substratkonzentration bei halbmaximaler Reaktionsgeschwindigkeit aus dem Graphen (1) bestimmt.

V_{max} : ~ 17 (%O₂ pro Minute)

K_m : ~ 1 µmol Glucose pro mL

Atmungsaktivität in Abhängigkeit zur Temperatur

Bisher haben wir uns darauf konzentriert, die Abhängigkeit der Atmungsaktivität von der Glucose-konzentration im Medium zu untersuchen. Nun ändern wir die Temperatur unter Beibehaltung der Substratkonzentration, bei welcher die Hälfte der Bindungsstellen am entsprechenden Hefeenzym durch Glucose besetzt sind (= K_M -Wert). Wir erwarten hier, dass die Atmungsaktivität mit zunehmender Temperatur steigt. Der K_m -Wert entspricht einer Glucosekonzentration von ~1 µmol/ml Reaktionsansatz. Aus Tabelle 2 (S.13) ist ersichtlich, dass die entsprechend zugegebene Menge Glucose der 0,1M Lösung ~15 µl sein soll.

Nachdem ein Wasserbad (wie messen bei 20°, 30° und 40°C) zur Temperierung der Reaktionskammer eingestellt wurde, wird die Methode zur Messung der O₂-Sättigung wie zuvor durchgeführt, und zwar mit einer gleichbleibenden Substratzugabe von 15 µl bei jeweils anderer Temperatur.

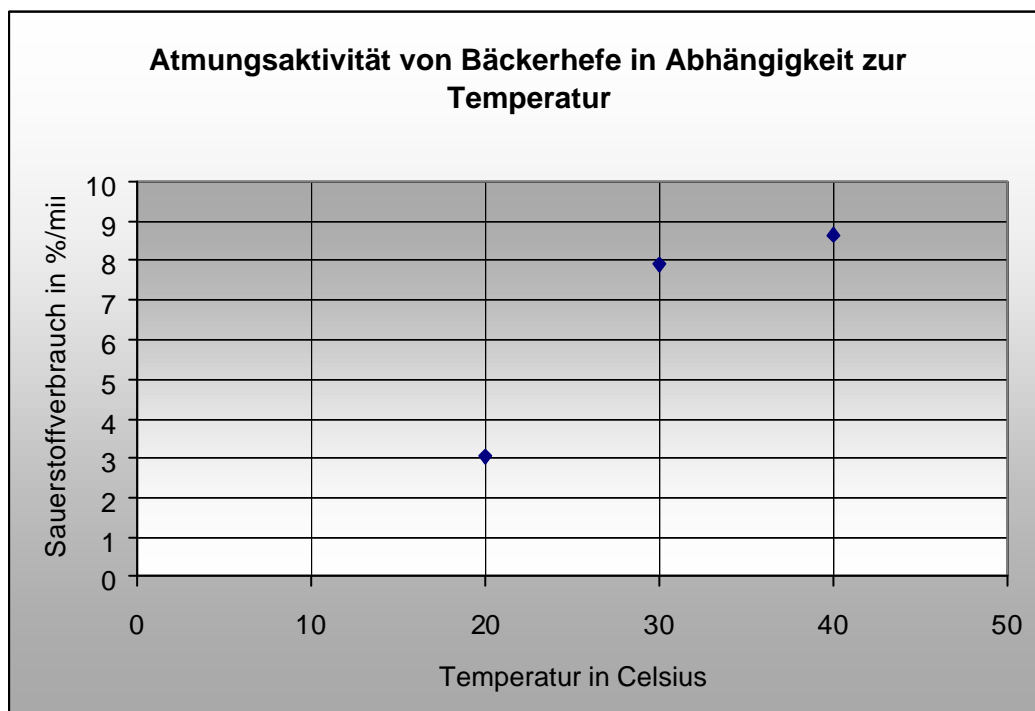
Aus Zeitgründen wurde diese Reaktion nur bei 20° und 40°C durchgeführt. Die Atmungsaktivität der Hefe bei gegebenen Bedingungen bei 30°C ist einfacherweise aus dem K_m -Wert der Substratsättigungskurve (Graph 1 S.14) zu bestimmen:

Aktivität bei c (Glucose) = 1 μ mol (entspricht einer Zugabe von 15ml): 7,9 %O₂/min

Die Berechnung der Aktivität der Hefezellen bei den Messungen bei 20° und 40°C entspricht dem obigen Rechenweg (siehe S. 12). Dementsprechend sind die sich aus den Messkurven (S.16) ergebenden Werte:

Messkurve I: $\Delta x = 2,8\text{cm}$ $\Delta y = 1,1\text{cm}$
Steigung: 3,04 %O₂ pro min
Messkurve II: $\Delta x = 1,7\text{cm}$ $\Delta y = 1,9\text{cm}$
Steigung: 8,65 %O₂ pro min

Trägt man nun die Atmungsaktivität der Hefezellen in Abhängigkeit zur Temperatur auf, ergibt sich folgendes Bild:



Graph.2: O₂-Verbrauch von Hefezellen in Abhängigkeit von der Temperatur

Diskussion

Atmung in Abhängigkeit zur Glucosekonzentration

Der Verlauf der Atmungsaktivität bei steigender Glucosekonzentration (Graph 1, S.14) spricht dafür, dass ab einer bestimmten Glucosekonzentration im Reaktionsansatz eine Sättigung der Hefezellen mit Substrat vorliegt, d.h. immer mehr Bindungsstellen an den Enzymen sind besetzt und die maximale Reaktionsgeschwindigkeit nimmt ab. Dies ist der typische Verlauf einer Substratsättigungskurve nach Michaelis-Menten.

Der aus dem Graphen bestimmte relativ niedrige K_m -Wert bedeutet, dass das Enzym, welches bei der Bäckerhefe am Anfang der Glycolyse Glucose bindet (Hexokinase), eine sehr hohe Affinität zum Substrat Glucose hat.

Atmung in Abhängigkeit von der Temperatur

Wie erwartet wächst zunächst der Verbrauch an Sauerstoff mit steigender Umgebungstemperatur. Allerdings ist dieses Verhältnis nur bis zu einer gewissen Temperatur vor 40°C linear. Nahe dieser Temperaturmarke muss das Optimum der Hefeenzyme für die Verwertung von Glucose liegen, da der lineare Kurvenverlauf dort einen Wendepunkt erfährt.

Leider liegen mir zu wenige Messwerte vor, um das Temperaturoptimum näher einzukreisen, aber ich vermute, dass es nicht viel höher als bei 40°C liegt und die Hefezellen bereits an die Grenzen ihres aeroben Stoffwechsels gestoßen sind.

Es lässt sich außerdem ablesen, dass eine Temperaturänderung um von 20°C auf 30°C einen Anstieg des O_2 -Verbrauchs von 5% pro Minute bedeutet, was für die industrielle Nutzung der Hefe (z.B. in Brauhäusern) bedeutet, dass der Faktor Temperatur durchaus einen Einfluss auf die Stoffwechselrate der Hefezellen hat.

Fehlerquellen

- Da von uns keine Verdünnung der 0,1M Glucoselösung hergestellt wurde, wurden am Ende unterschiedliche Volumina Reaktionsansatz für die späteren Messungen herangezogen. Da die zugegebenen Mengen an Glucose jedoch sehr gering waren (5-40µl), sollte der Fehler nicht über 5% betragen.
- Auf einigen Messkurven sind kleine "Hügel" zu sehen, welche wahrscheinlich von zu diesem Zeitpunkt eingeschalteten Geräten in der Umgebung stammen, welche die empfindliche Sauerstoffelektrode kurz gestört haben.
- Es war mir leider nicht mehr möglich im Nachhinein den natürlichen Drift der Elektrode von der tatsächlichen Steigung sämtlicher Kurven zu subtrahieren, da die Vorlaufzeit bei den Messung zu kurz war. Da dies aber bei sämtlichen Kurven der Fall war, sollte der Fehler hier nicht weiter relevant sein.

Quellenangaben

- Unterrichtsmaterialien zum Thema O_2 -Elektrode
- Bedienungsanleitungen zu sämtlichen Geräten der Firma Bachofer