

Der Verteilungsraum von physikalisch gelöstem Sauerstoff in wäßrigen Lösungen organischer Substanzen

The Distribution Space of Physically Dissolved Oxygen in Aqueous Solutions
of Organic Substances

Rolf Zander

Physiologisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

(Z. Naturforsch. 31 c, 339–352 [1976]; eingegangen am 13. April 1976)

Physically Dissolved Oxygen, Oxygen Solubility, Oxygen Adsorption, Oxygen Distribution

In order to evaluate the distribution of molecular oxygen in biological systems, the oxygen solubility (ml/ml atm) at 37 °C in aqueous solutions of thirty organic substances with different concentrations was measured by the classical Van Slyke principle.

The oxygen solubility always (with the exception of hemoglobin) decreases exponentially with increasing concentration of the respective substance. In all cases this behavior is described highly significant by a simple empiric exponential function, when the substance concentration as well as the oxygen solubility of pure water is given. The influence of one substance on oxygen solubility contributes additively to the over-all solubility value of a solution of several dissolved substances.

Changes in oxygen solubility and, therefore, oxygen distribution in aqueous solutions may be related to three main phenomena:

1. restriction of the free water volume by the specific partial volume of a dissolved substance (e. g. urea solutions),
2. existence of non-solvent water for oxygen (especially in solutions of amino acids),
3. adsorption of oxygen at the interphase in a heterogenous system (e. g. protein solutions).

Für die biologische Oxydation innerhalb der Zelle muß der Atmungskette zur Energiegewinnung Sauerstoff in Form von physikalisch gelöstem O₂ zur Verfügung stehen.

Nach dem Henry'schen Gesetz¹ ist die O₂-Konzentration in der flüssigen Phase dem Partialdruck des Gases in der angrenzenden Gasphase proportional. Der Proportionalitätsfaktor wird als Löslichkeit oder Löslichkeitskoeffizient bezeichnet.

Im medizinischen Bereich wird aus praktischen Gründen im allgemeinen der Bunsen'sche Löslichkeitskoeffizient verwendet, von Bunsen² ursprünglich als Absorptionskoeffizient bezeichnet. Er gibt das Gasvolumen in ml (STPD) an, welches von 1 ml einer flüssigen Phase bei einem Gaspartialdruck von 1 atm absorbiert wird.

Dieser Löslichkeitskoeffizient ist von der Art der flüssigen Phase und der Temperatur abhängig (zusammenfassende Darstellung von Löslichkeitskoeffizienten s. refs 3, 4).

Obwohl zur Zeit noch relativ wenige Kenntnisse über die genaue Struktur des Wassers in der biologischen Zelle vorliegen, deutet doch eine Reihe von Befunden darauf hin, daß hier für Wasser andere

physikochemische Eigenschaften vorliegen als sie für freies Wasser bekannt sind⁵. Es erhob sich daher die Frage, ob diese Eigenschaften in der Lage sind, die Verteilung von physikalisch gelöstem Sauerstoff zu beeinflussen.

Für verschiedene Gewebehomogenate des Menschen konnte Zander⁶ zeigen, daß erhebliche Einschränkungen des O₂-Lösungsraumes nachweisbar sind, was zu der Annahme berechtigt, daß es im biologischen Bereich größere oder kleinere Bezirke mit einer extrem kleinen O₂-Löslichkeit geben dürfte⁷.

Ziel der hier vorliegenden Untersuchungen sollte es daher sein, die mögliche Einschränkung des O₂-Lösungsraumes in wäßrigen Systemen an einfachen Lösungen zu untersuchen.

An Versuchen, Zusammenhänge zwischen der Gaslöslichkeit in wäßrigen Systemen und der Wasserstruktur abzuleiten, hat es in der Vergangenheit nicht gefehlt.

So hat Philip⁸ neben anderen Autoren den Versuch unternommen, aus der H₂-Löslichkeit in Lösungen von Elektrolyten und Nichteurolyten auf den Anteil des „gebundenen“ Wassers zu schließen. Stoddard⁹ kam allerdings später zu dem Ergebnis, daß zumindest aus der N₂-Löslichkeit in Proteinlösungen keine definierten Aussagen über die Hydratisierung der gelösten Substanzen abzuleiten

Sonderdruckanforderungen an Professor Dr. R. Zander,
Physiologisches Institut der Universität, Saarstraße 21,
D-6500 Mainz.



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

sind. Auch der Versuch, einen Zusammenhang zwischen der Hydratisierung gelöster Gase und der Gaslöslichkeit herzustellen, wurde unternommen¹⁰.

In neuerer Zeit beschäftigen sich eine Vielzahl von Untersuchungen mit der Frage, inwieweit die Wasserstruktur durch gelöste organische Substanzen verändert wird. Daraus kann abgeleitet werden, daß eine Aussage über den Anteil von Hydratwasser bzw. Wasserbindung nicht nur von der benutzten Methodik (vgl. z. B. refs 11–14), sondern ebenso davon abhängt, welches Molekül bezüglich seines Verteilungsraumes betrachtet wird (vgl.¹²).

Die Verteilung von kleineren Molekülen könnte zusätzlich im Sinne des Exclusions-Phänomens beeinflusst werden, wenn es sich um wäßrige Lösungen von Makromolekülen handeln sollte^{15–17}.

Aus der Einschränkung des O₂-Lösungsraumes durch gelöste organische Substanzen kann im Rahmen dieser Untersuchung keine Aussage über die ursächlichen Phänomene gemacht werden. Wenn hier über die Veränderung des Lösungsraumes für O₂ berichtet wird, so soll lediglich vom lösenden bzw. nichtlösenden Raum („non-solvent water“, vgl. ref. 12) gesprochen werden und Bezeichnungen wie gebundenes, orientiertes, assoziiertes oder immobilisiertes Wasser sollen vermieden werden.

Methodik und Material

Bestimmung von O₂-Löslichkeitskoeffizienten mit dem manometrischen Van Slyke-Verfahren

Das manometrische Van Slyke-Verfahren¹⁸ basiert auf folgendem Grundprinzip:

Ein abgemessenes Probenvolumen wird in das Gerät eingebracht, die Gase werden durch Erzeugen eines Grobvakuum (Quecksilberpumpe) praktisch vollständig extrahiert, anschließend auf ein genau fixiertes Volumen gebracht und der jeweilige Gasdruck vor bzw. nach Absorption des Gases mit einem Hg-Manometer gemessen. Aus der gemessenen Druckdifferenz, dem vorgegebenen Volumen, der Temperatur und der allgemeinen Gaskonstante wird mit Hilfe des allgemeinen Gasgesetzes die molare Gaskonzentration der Probe berechnet.

Die Äquilibration der Proben erfolgte je nach Art der Probe zwischen 30 und 60 min lang in einem thermostatisierten Wasserbad von $37 \pm 0,1^\circ\text{C}$ in Kugeltonometern nach Laue¹⁹ mit einem wasserdampfgesättigten Gasmisch von 99,9 vol% Sauerstoff (Linde, Mainz). Der zugehörige Sauerstoffpartialdruck wurde mit dem laufend abgelesenen, korrigierten Barometerdruck unter Berücksichtigung der Wasserdampfspannung von 47,08 mmHg berech-

net. Die für die vollständige Äquilibration notwendige Zeit mußte für den Fall auf etwa 1,5 Stunden ausgedehnt werden, daß bei höherer Viskosität der Proben eine nur geringe Konvektion im Tonometer eingestellt werden konnte.

Zu kräftiges Schütteln (starke Konvektion innerhalb der Probe) muß nämlich zwangsläufig zu einer Übersättigung der Probe²⁰ oder sogar zum Einschluß von nicht sichtbaren oder sichtbaren Gasblasen führen.

Die Probe wurde direkt vom Boden des Tonometers in das Gerät aufgezogen, ein Volumen von 2 ml mit einer graduierten Pipette eingestellt und Quecksilber nachgezogen.

Da beim Aufziehen des Probenvolumens je nach Art der Lösung eine größere oder kleinere Spur der Probe an der Wand der Pipette verbleibt, mußte dieses Volumen nach der Analyse durch langsames Vortreiben von Quecksilber gesammelt und an einer Graduierung abgemessen werden.

Diese Volumenkorrektur fand bei jeder Analyse Berücksichtigung.

Die verwendeten Van Slyke-Apparaturen wurden, abgesehen von mehreren Änderungen (Vergrößerung des Analysen- und des Extraktionsvolumens, Thermostatisierung der Analysenkammer, Schüttelvorrichtung) nach den Angaben von Van Slyke und Plazin²¹ hergestellt. Der Analysengang konnte weitgehend von Albers²² übernommen werden. Die Evakuierung der Gase wurde solange durchgeführt, bis im Abstand von 5 Minuten keine Änderung des Gasdruckes zu registrieren war. Die Absorption von Sauerstoff erfolgte mit Na₂S₂O₄ in alkalischer Lösung.

Ein thermostatisierter Wassermantel ($\pm 0,1^\circ\text{C}$) diente zur Konstanthaltung der Temperatur der Analysenkammer. Die gemessenen Gasdruckdifferenzen könnten durch solche Faktoren verfälscht werden, die die Druckverhältnisse in der Analysenkammer während der Analyse, d. h. zwischen der Ablesung des Ausgangs- und des Enddruckes verändern. Dies gilt sowohl für eine Änderung der Wasserdampfspannung im Analysenraum als auch für die Zufuhr der Absorptionslösung (niedrigeres spez. Gewicht der Na₂S₂O₄-Lösung gegenüber Hg, Gehalt an physikalisch gelöstem N₂); dies gilt aber nicht für den Dampfdruck der zu untersuchenden Lösung oder die Zugabe von Quecksilber, da diese Faktoren beide Drucke im gleichen Sinne beeinflussen.

Zur Überprüfung dieses Sachverhaltes wurden Leeranaysen mit einem Volumen von 2 ml Aqua dest. (zuvor mehrmals entgast) durchgeführt. Eine 10-fache Bestimmung dieses Leerwertes ergab für jedes Gerät einen Wert von 0 ± 1 mmHg, so daß auf eine Korrektur verzichtet werden konnte.

Aus der im Van Slyke-Gerät ermittelten Gasdruckdifferenz für O_2 , dem vorgegebenen Analysenvolumen, der konstant gehaltenen Temperatur und der allgemeinen Gaskonstante wurde mit Hilfe des allgemeinen Gasgesetzes die molare O_2 -Konzentration für den vorgegebenen O_2 -Partialdruck (Äquilibrierung) berechnet. Dieser Wert wurde in Milliliter O_2 (STPD) pro Milliliter untersuchter Lösung und pro Atmosphäre O_2 -Partialdruck umgerechnet (Bunsen'scher Löslichkeitskoeffizient in ml O_2 /ml atm).

Bei der Gas-Extraktion von Untersuchungsmaterial mit hoher Proteinkonzentration kommt es zu einer Schaumbildung, die ein genaues Einstellen des Flüssigkeitsmeniskus auf die Volumenmarke erschwert oder verhindert. Eine Zugabe von 0,1–0,4 ml Octylalkohol vermag diese Schaumbildung zu verhindern. Octylalkohol wurde vor der Analyse im Van Slyke-Apparat entgast, eine Korrektur des Meßwertes war nicht erforderlich.

Systematische Fehler bei der Van Slyke-Analyse können insbesondere durch eine mit nicht genügender Genauigkeit durchgeführte Bestimmung des Analysenvolumens, durch den geringen Anteil nicht extrahierten Gases (Grobvakuum) und durch eine Reabsorption von Gas zwischen Evakuierung und Einstellung auf das Analysenvolumen (zur Ablesung des Gasdruckes) verursacht werden.

Daher gilt als Voraussetzung der Anwendung eines manometrischen Van Slyke-Apparates, daß entweder die Gerätedaten möglichst exakt bestimmt werden oder daß eine Eichung des Gesamtgerätes mit einem Standard mit bekanntem O_2 -Löslichkeitskoeffizienten durchgeführt wird.

Hier wurde die zweite Möglichkeit gewählt, d. h. Eichung des Gesamtgerätes mit einem Standard, und zwar nicht zuletzt deshalb, weil sich nämlich gezeigt hatte, daß durch die Reinigung der Glasteile mit Säuren und Laugen nach jeweils mehreren Wochen das geeichte Gasvolumen vergrößert worden war, was sowohl die Wände des Gefäßes als auch die entsprechenden Hahnküken betraf. Aus diesem Grunde wurde nun im Abstand von einigen Wochen jedes Gerät mit einer 10-fach-Bestimmung des O_2 -Löslichkeitskoeffizienten von Aqua dest. bei 37 °C (Standardwert = 0,0241 ml/ml atm, Mittelwert aus 10 Literaturwerten (s. Zander und Euler²³) neu geeicht. Bei diesem Vorgehen erübrigt sich außerdem eine Korrektur für den Anteil des nicht extrahierten Gases, der mit dem Extraktionsvolumen, dem Probenvolumen und der Extraktionstemperatur vorgenommen werden kann^{18, 24}, sowie eine weitere Korrektur für einen möglichen Anteil von reabsorbiertem Gas. Voraussetzung für die beschriebene Methodik zur Bestimmung von O_2 -Löslichkeitskoeffizienten ist die Gültigkeit des Henry-Dalton'schen Gesetzes,

d. h. die Proportionalität zwischen Partialdruck und Konzentration in der flüssigen Phase sowie die Unabhängigkeit der einzelnen Gase voneinander.

Nur unter dieser Voraussetzung ist es zulässig, einen bei einem Partialdruck von etwa 700 mmHg bestimmten Löslichkeitskoeffizienten auf 760 mmHg (1 atm, Einheit des Bunsen'schen Löslichkeitskoeffizienten) umzurechnen.

Obwohl einerseits Hinweise dafür existieren, daß die Bestimmung von Löslichkeitskoeffizienten bei Partialdrücken unterhalb von 200–300 mmHg zu etwas abweichenden Werten führen kann^{25, 26}, andererseits oberhalb von 1 atm Partialdruck deutliche Abweichungen vom Henry-Dalton'schen Gesetz beschrieben wurden^{27, 28}, kann für diese Methodik von der Gültigkeit des Henry-Dalton'schen Gesetzes ausgegangen werden.

Material

Der Einfluß verschiedener organischer Substanzen auf die O_2 -Löslichkeit eines wäßrigen Systems wurde an Lösungen von Kohlenhydraten, Proteinen, Aminosäuren und verschiedener Substanzen untersucht. Je nach Art der untersuchten Substanz handelte es sich um echte oder kolloidale Lösungen (bei schwerlöslichen Substanzen wurde bisweilen Ultraschall benutzt).

Als Lösungsmittel diente mit wenigen Ausnahmen Aqua dest., in Einzelfällen (z. B. Gluboline) wurde eine 0,9-prozentige NaCl-Lösung verwandt. In diesem Falle wurde der gemessene Löslichkeitskoeffizient um den entsprechenden Betrag auf den Wert für Aqua dest. korrigiert.

Die Konzentrationen wurden in g/100 ml vorgegeben, durch Abwiegen wurde die Dichte (g/ml) bei Raumtemperatur ermittelt. Im einzelnen wurden folgende Substanzen verwandt (die Einteilung in Kohlenhydrate und verwandte Verbindungen und Eiweiße und Verwandte erfolgte nur unter dem Gesichtspunkt der O_2 -Löslichkeitsbeeinflussung):

Kohlenhydrate und Verwandte:

Glucose, Glucose-1-phosphat, Saccharose, Lactose, Maltose, Inulin, Glycerin, Stärke (Merck), Dextrin, Glykogen (Roth), Chondroitinsulfat, Glucosamin (Serva).

Eiweiße und Verwandte:

Alanin, Hydroxyprolin, Lysin, Glycin, Cystein, Rinderalbumin, Hühneralbumin (Merck), Rinder-, α -, β -, γ -globulin, Hämoglobin (Fluka), Harnstoff, Cholinchlorid (Serva), Adenosin-tri-phosphat, Adenosin-di-phosphat (Boehringer-Mannheim).

Zur Untersuchung der Frage, ob der Einfluß organischer Substanzen auf die O_2 -Löslichkeit additiv eingeht, wurden 10 Lösungen unterschiedlicher Zusammensetzung hergestellt.

Auswertung der Ergebnisse

Eine von Setschenow erstmals 1889²⁹ angegebene empirische Beziehung zur phänomenologischen Beschreibung des Zusammenhanges zwischen Salzkonzentration einer Lösung und Gaslöslichkeit wurde hier für die Beschreibung der O₂-Löslichkeitsänderung in wäßrigen Lösungen organischer Substanzen benutzt.

Die Beziehung lautet

$$\alpha = \alpha_0 \cdot e^{-k \cdot c}$$

und eröffnet die Möglichkeit, den O₂-Löslichkeitskoeffizienten einer Lösung (α , ml/ml atm) aus einer Exponentialfunktion unter Verwendung der O₂-Löslichkeit von Aqua dest. (α_0) und einer Konstanten, k , sowie der Konzentration der gelösten Substanz, c , zu bestimmen.

Die Berechnung der jeweiligen Funktion erfolgte mit einem Computerprogramm*. Verwendet wurden die Einzelmeßwerte der O₂-Löslichkeit bei der jeweiligen Substanzkonzentration. Da es sich grundsätzlich um wäßrige Lösungen handelte, wurde der bekannte O₂-Löslichkeitskoeffizient von Aqua dest. bei 37 °C als α_0 vorgegeben.

Bei Verwendung der Substanzkonzentration c in g/100 ml unterschieden sich die Exponentialfunktionen, die durch Approximation gewonnen wurden, letztlich nur noch in dem Wert für die Konstante k .

In einigen Fällen wurden zum Vergleich die linearen Regressionsgeraden berechnet.

Die zugleich erhaltenen Korrelationskoeffizienten erlauben die Beantwortung der Frage, wie gut die gewonnene Funktion die vorgegebenen Meßwerte beschreibt.

Die erhaltenen Funktionen wurden in doppelter Hinsicht benutzt, nämlich einmal zur empirischen Beschreibung der O₂-Löslichkeit in wäßrigen Lösungen organischer Substanzen, zum anderen zur Untersuchung der Frage, ob der Einfluß organischer Substanzen auf die O₂-Löslichkeit additiv in die Gesamtlöslichkeit eingeht.

Ergebnisse

Die bei 37 °C für wäßrige Lösungen organischer Substanzen gemessenen O₂-Löslichkeitskoeffizienten sind den folgenden Tabn. I – III zu entnehmen. Ins-

besondere die Frage, wie gut der jeweils gemessene Wert der O₂-Löslichkeit einer Lösung mit dem mit Hilfe der approximierten Exponentialfunktion berechneten Wert übereinstimmt, kann anhand der Tabellen beurteilt werden.

Für eine Reihe von Substanzen ist die Konzentrationsabhängigkeit der O₂-Löslichkeit graphisch als Exponentialfunktion in den Abb. 1 und 2 wiedergegeben, die damit einen Vergleich zwischen einzelnen Lösungen ermöglichen.

Die Zusammenstellung der untersuchten Lösungen von Kohlenhydraten und verwandten Verbindungen macht deutlich (Tab. I und Abb. 1), daß die O₂-Löslichkeitsänderung dieser Stoffgruppe unabhängig vom Molekulargewicht ein sehr einheitliches Verhalten aufweist. Lediglich Chondroitinsulfat und Glucosamin weisen deutlich stärkere Effekte auf die O₂-Löslichkeitsabnahme auf. Es ist offensichtlich, daß die O₂-Löslichkeit exponentiell mit Zunahme der Substanzkonzentration abnimmt. Die Abweichungen zwischen Meßwert und dem mit Hilfe der Exponentialfunktion berechneten Wert sind minimal (Tab. I), die Korrelationskoeffizienten der approximierten Funktionen (–0,980 bis –0,999) belegen, daß die Meßwerte hochsignifikant mit der jeweiligen Funktion beschrieben werden.

Das Beispiel des Glycerins macht deutlich, daß die aus dem Konzentrationsbereich von 0 – 30 g% ermittelte Exponentialfunktion nicht ohne weiteres auf höhere Konzentrationen angewandt werden kann. Während der berechnete Wert für 100% Glycerin (= 126 g/100 ml) 0,0074 ml/ml atm beträgt, wurde ein Meßwert von $0,0042 \pm 0,0005$ ml/ml atm ($n = 6$) erhalten. Daß auch in diesem Falle Wechselwirkungen zwischen gelöster Substanz und Wasser auftreten (Gemisch zweier Flüssigkeiten), zeigt der exponentielle Verlauf. Dies hat zur Folge, daß die Berechnung der Summenlöslichkeit für O₂ aus der O₂-Löslichkeit der beiden reinen Einzelkomponenten nicht möglich ist.

In der Tab. I nicht aufgeführt sind Daten über Lösungen von Maltose und Lactose. Diese Substanzen unterscheiden sich offensichtlich nicht von dem Verhalten der Saccharose, da für eine 20-prozentige Lösung jeweils folgende Meßwerte gefunden wurden:

Saccharose:	$0,0189 \pm 0,0004$ ml/ml atm	($n = 6$) ;
Maltose:	$0,0190 \pm 0,0001$ ml/ml atm	($n = 4$) ;
Lactose:	$0,0187 \pm 0,0003$ ml/ml atm	($n = 4$) .

* Herrn U. Wellner vom Physiologischen Institut der Universität Mainz wird hiermit für die Berechnung der Funktionen gedankt.

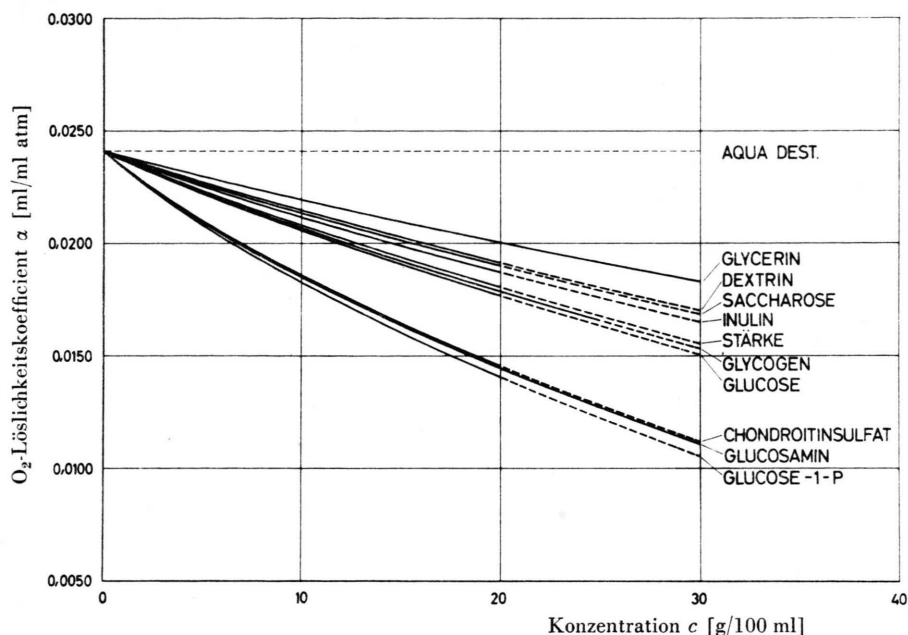


Abb. 1. O_2 -Löslichkeitskoeffizienten (ml/ml atm) von wäßrigen Lösungen verschiedener Kohlenhydrate und verwandter Substanzen in Abhängigkeit von deren Konzentration (g/100 ml) bei 37 °C. Gezeigt sind die jeweiligen Exponentialfunktionen für den gemessenen (durchgezogene Linien) und berechneten Bereich (unterbrochene Linien) im Vergleich zur O_2 -Löslichkeit in Aqua dest. (0,0241 ml/ml atm).

Tab. I. O_2 -Löslichkeitskoeffizienten α (ml/ml atm) von wäßrigen Lösungen von Kohlenhydraten und verwandten Verbindungen in Abhängigkeit von deren Konzentration (g/100 ml). Neben den jeweiligen gemessenen Mittelwerten sind die zugehörigen Standardabweichungen und (in Klammern) die mit der e-Funktion und ihrer angegebenen Konstanten k berechneten Werte wiedergegeben.

Substanz	Anzahl der Werte	Konstante k	O_2 -Löslichkeitskoeffizienten (ml/ml atm) $\times 10^4$ bei einer Konzentration (g/100 ml) von:				
			2	10	20	25	30
Glucose	12	-0,01562	230 \pm 1 (234)	205 \pm 2 (206)	178 \pm 3 (176)		
Saccharose	15	-0,01195	234 \pm 1 (235)	215 \pm 3 (214)	189 \pm 4 (190)		
Dextrin	8	-0,01155		219 \pm 5 (215)	189 \pm 4 (191)		
Inulin	15	-0,01262	233 \pm 1 (235)	212 \pm 5 (212)	189 \pm 4 (187)		
Stärke	13	-0,01462	229 \pm 2 (234)	206 \pm 4 (208)	183 \pm 3 (180)		
Glycerin	12	-0,00938		219 \pm 4 (219)	197 \pm 1 (200)		184 \pm 3 (182)
Glykogen	18	-0,01517	233 \pm 3 (234)	209 \pm 5 (207)	188 \pm 2 (178)	157 \pm 9 (165)	
Glucosamin	11	-0,02586		191 \pm 1 (186)	143 \pm 4 (144)		108 \pm 4 (111)
Chondroitin-sulfat	8	-0,02558		184 \pm 5 (187)	146 \pm 5 (145)		

In Tab. II sind die entsprechenden Daten für Lösungen sehr verschiedener Substanzen aufgeführt.

Mit Ausnahme von Glucose-1-phosphat und Harnstoff weisen auch diese Substanzen sehr einheitliches Verhalten auf und ähneln insgesamt den Kohlenhydrat-Lösungen.

Die approximierten Exponentialfunktionen beschreiben die Meßwerte hochsignifikant (Korrelationskoeffizienten $-0,985$ bis $-0,995$).

Die O_2 -Löslichkeit in Lösungen von Glucose-1-phosphat unterscheidet sich deutlich von der anderer Kohlenhydratlösungen und ist etwa mit Glucosamin und Chondroitinsulfat zu vergleichen (s. Abb. 1). Insbesondere der Unterschied zwischen Glucose- und Glucose-1-phosphat-Lösungen ist deutlich. Wegen der guten Löslichkeit von Harnstoff konnte diese Substanz bis zu weit höheren Konzentrationen untersucht werden. Die für den Konzentrationsbereich von $0-30$ g% ermittelte Funktion (Tab. II) beschreibt die Meßwerte im höheren Konzentrationsbereich optimal:

- 40 g%: Meßwert = $0,0173 \pm 0,0002$ ml/ml atm
($n=4$),
berechneter Wert = $0,0171$ ml/ml atm;
50 g%: Meßwert = $0,0154 \pm 0,0001$ ml/ml atm
($n=4$),
berechneter Wert = $0,0157$ ml/ml atm;
60 g%: Meßwert = $0,0146 \pm 0,0004$ ml/ml atm
($n=4$),
berechneter Wert = $0,0144$ ml/ml atm.

Auffällig ist die besonders geringe O_2 -Löslichkeitserniedrigung durch Harnstoff in wäßriger Lösung.

Für Lösungen von Cholinchlorid konnten Konzentrationen bis zu 70 g% untersucht werden.

Auch hier zeigt sich eine sehr gute Übereinstimmung zwischen gemessenen und mit Hilfe der im unteren Konzentrationsbereich ($0-30$ g%, s. Tab. II) ermittelten Exponentialfunktion berechneten Werten:

- 50 g%: Meßwert = $0,0125 \pm 0,0002$ ml/ml atm
($n=4$),
berechneter Wert = $0,0128$ ml/ml atm;
70 g%: Meßwert = $0,0100 \pm 0,0002$ ml/ml atm
($n=4$),
berechneter Wert = $0,0100$ ml/ml atm.

Die für verschiedene Proteinlösungen gefundenen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten sind in Tab. III wiedergegeben (und in Abb. 2 dargestellt). Die approximierten Exponentialfunktionen beschreiben mit Ausnahme der Hämoglobin-Lösungen die Meßwerte hochsignifikant (Korrelationskoeffizienten $-0,9$ und größer), was auch aus den Angaben der Tab. III hervorgeht. Wegen der auffällig geringen O_2 -Löslichkeitsbeeinflussung durch Proteine wurde geprüft, ob sich die Konzentrationsabhängigkeit der O_2 -Löslichkeit auch durch eine lineare Funktion beschreiben läßt.

Tatsächlich waren die gefundenen linearen Funktionen (Ausnahme Hämoglobin) ebenso hochsignifi-

Tab. II. O_2 -Löslichkeitskoeffizienten α (ml/ml atm) von wäßrigen Lösungen von verschiedenen Substanzen in Abhängigkeit von deren Konzentration (g/100 ml). Neben den jeweiligen gemessenen Mittelwerten sind die zugehörigen Standardabweichungen und (in Klammern) die mit der e-Funktion und ihrer angegebenen Konstanten k berechneten Werte wiedergegeben.

Substanz	Anzahl der Werte	Konstante k	O_2 -Löslichkeitskoeffizienten (ml/ml atm) $\times 10^4$ bei einer Konzentration (g/100 ml) von:			
			5	10	20	30
Kreatinin	8	$-0,01392$	226 ± 1 (225)	209 ± 3 (210)		
Glucose-1-phosphat	18	$-0,02733$	212 ± 2 (210)	183 ± 1 (183)	139 ± 2 (140)	
ATP	20	$-0,01634$	220 ± 4 (222)	207 ± 6 (205)	174 ± 6 (174)	
ADP	12	$-0,01463$	225 ± 7 (224)	202 ± 5 (208)	190 ± 2 (180)	
Acetylcholin	12	$-0,01389$		211 ± 3 (210)	182 ± 6 (183)	159 ± 7 (159)
Cholinchlorid	12	$-0,01261$		208 ± 2 (212)	182 ± 3 (187)	171 ± 2 (165)
Harnstoff	12	$-0,00862$		222 ± 3 (221)	206 ± 5 (203)	183 ± 3 (186)

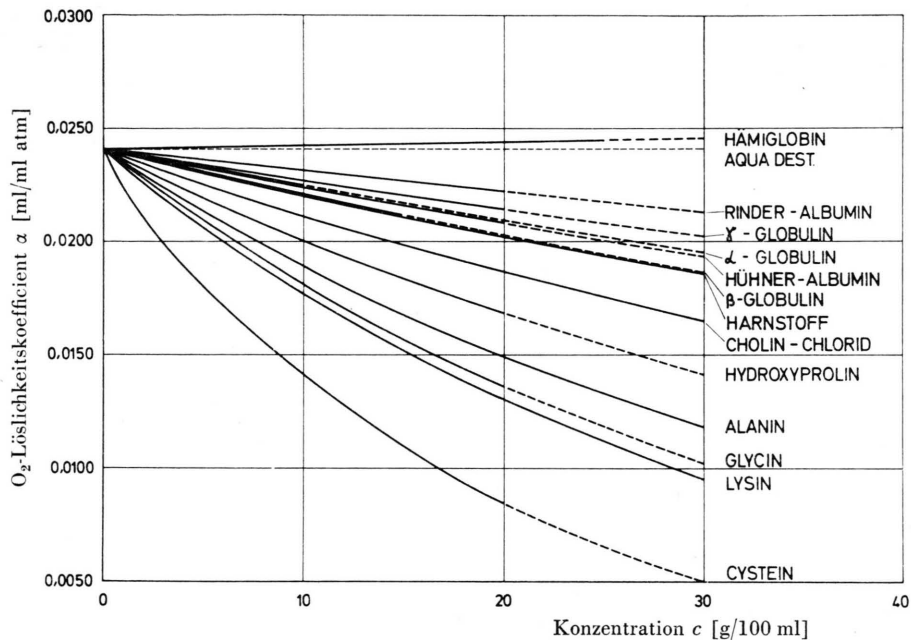


Abb. 2. O_2 -Löslichkeitskoeffizienten (ml/ml atm) von wäßrigen Lösungen verschiedener Proteine, Aminosäuren und verwandter Substanzen in Abhängigkeit von deren Konzentration (g/100 ml) bei 37 °C. Gezeigt sind die jeweiligen Exponentialfunktionen für den gemessenen (durchgezogene Linien) und berechneten Bereich (unterbrochene Linien) im Vergleich zur O_2 -Löslichkeit in Aqua dest. (0,0241 ml/ml atm).

Tab. III. O_2 -Löslichkeitskoeffizienten α (ml/ml atm) von wäßrigen Lösungen von Proteinen und Aminosäuren in Abhängigkeit von deren Konzentration (g/100 ml). Neben den jeweiligen gemessenen Mittelwerten sind die zugehörigen Standardabweichungen und (in Klammern) die mit der e-Funktion und ihrer angegebenen Konstanten k berechneten Werte wiedergegeben.

Substanz	Anzahl der Werte	Konstante k	O_2 -Löslichkeitskoeffizienten (ml/ml atm) $\times 10^4$ bei einer Konzentration (g/100 ml) von:					
			5	10	15	20	25	30
Rinder-albumin	10	-0,00417		232 \pm 4 (231)		221 \pm 2 (222)		
α -Globulin	10	-0,00703	237 \pm 4 (233)	224 \pm 5 (225)				
β -Globulin	14	-0,00856		220 \pm 5 (221)	213 \pm 5 (212)			
γ -Globulin	11	-0,00589		232 \pm 3 (227)		214 \pm 7 (214)		
Hühner-albumin	12	-0,00744		221 \pm 6 (224)		209 \pm 8 (208)		
Hämiglobin	10	+0,00070		241 \pm 7 (243)		245 \pm 8 (244)	245 \pm 10 (245)	
Lysin	20	-0,03097		177 \pm 5 (177)		133 \pm 4 (130)		92 \pm 2 (95)
Glycin	8	-0,02868		177 \pm 2 (181)		139 \pm 1 (136)		
Hydroxy-prolin	8	-0,01799		202 \pm 1 (201)		168 \pm 1 (168)		
β -Alanin	16	-0,02390		190 \pm 2 (190)		149 \pm 4 (149)		117 \pm 1 (112)
Cystein	8	-0,05255		128 \pm 3 (143)		97 \pm 4 (84)		

kant (Korrelationskoeffizienten gleich oder etwas höher als bei den Exponentialfunktionen). Auf die Darstellung dieser Funktionen wurde verzichtet, da im dargestellten Konzentrationsbereich kaum Unterschiede zwischen beiden Funktionen zu verzeichnen sind.

Neben den schon sehr geringen Löslichkeitsänderungen durch Proteine fällt das Verhalten der Hämoglobin-Lösungen besonders auf, weil hier eine Zunahme der O₂-Löslichkeit über den Wert von Aqua dest. beobachtet wird.

Die ebenfalls in Tab. III enthaltenen Daten von Aminosäurelösungen unterscheiden sich von den Proteinlösungen insbesondere durch eine sehr starke O₂-Löslichkeitsbeeinflussung. Alle Exponentialfunktionen beschreiben die Meßwerte hochsignifikant (Korrelationskoeffizienten zwischen -0,980 und -0,999), wie aus Tab. III hervorgeht.

Entgegen den bisher genannten Beispielen zeigt sich für Lysin eine nicht so optimale Übereinstimmung zwischen gemessenen Werten und mit der Exponentialfunktion (approximiert für 0–30 g%) berechneten Werten:

40 g%: Meßwert = $0,0051 \pm 0,0004$ ml/ml atm
($n=6$),
berechneter Wert = $0,0070$ ml/ml atm;
50 g%: Meßwert = $0,0024 \pm 0,0001$ ml/ml atm
($n=3$),
berechneter Wert = $0,0051$ ml/ml atm.

Die für komplex zusammengesetzten Lösungen ermittelten O₂-Löslichkeitskoeffizienten sind in Tab. IV zusammengestellt. Neben der Zusammensetzung der Lösungen sind die für jede Einzelkomponente zu erwartende O₂-Löslichkeitsbeeinflussung angegeben und daraus ein theoretischer Wert für die O₂-Löslichkeit des Gesamtsystems berechnet.

Die gemessenen Löslichkeitskoeffizienten stimmen gut mit den aus der Zusammensetzung und dem Verhalten der Einzelkomponenten zu erwartenden Werten überein. Abweichungen zwischen gemessenen und berechneten Werten treten erst bei sehr niedrigen Löslichkeitskoeffizienten auf, nämlich im Bereich von etwa 25% des für Aqua dest. bekannten Wertes (s. Lösungen 9 und 10). Bei derartig hohen Substanzkonzentrationen kann offenbar nicht mehr davon ausgegangen werden, daß die Einzelkomponenten sich jeweils unabhängig voneinander verhalten. Es ist offensichtlich, daß in allen Fällen die gemessenen Werte über den berechneten liegen.

Tab. IV. Berechnete und gemessene O₂-Löslichkeitskoeffizienten (ml/ml atm) von Lösungen unterschiedlicher Zusammensetzung. Die in Klammern angegebenen Werte geben die jeweilige Konzentration und die zugehörige Löslichkeitsänderung gegenüber Aqua dest. (ml/ml atm) an.

Lö- sung	Zusammensetzung	O ₂ -Löslichkeits- koeffizient [ml/ml atm]	
		berechnet	gemessen
1	Glucose (10 g%, -0,00349) Hühnerealbumin (10 g%, -0,00173) NaCl (2,9 g%, -0,00317)	0,0157	0,0174 ± 0,0003
2	Glucose (10 g%, -0,00349) Hydroxyprolin (10 g%, -0,00397) NaCl (2,9 g%, -0,00317)	0,0135	0,0138 ± 0,0004
3	Lysin (10 g%, -0,00642) Rinderalbumin (2 g%, -0,0002) Cholinchlorid (8 g%, -0,00231) NaCl (1,34 g%, -0,00152)	0,0137	0,0143 ± 0,0004
4	α-Globulin (1 g%, -0,00017) Chondroitinsulfat (4 g%, -0,00234) Cholinchlorid (4 g%, -0,00119) NaCl (2,5 g%, -0,00276)	0,0176	0,0182 ± 0,0003
5	Glucose (10 g%, -0,00349) Chondroitinsulfat (4 g%, -0,00234) α-Globulin (2 g%, -0,00034) NaCl (0,18 g%, -0,00021)	0,0177	0,0188 ± 0,0003
6	α-Globulin (1 g%, -0,00017) γ-Globulin (2 g%, -0,00028) Glucose (7,5 g%, -0,00266) NaCl (2,41 g%, -0,00267)	0,0183	0,0188 ± 0,0003
7	Hühnerealbumin (10 g%, -0,00173) Harnstoff (15 g%, -0,00292)	0,0195	0,0195 ± 0,0010
8	Harnstoff (6 g%, -0,00121) Glucose (5 g%, -0,00181) NaCl (1,16 g%, -0,00132) Hühnerealbumin (4 g%, -0,0007) Cholinchlorid (4 g%, -0,00119)	0,0179	0,0180 ± 0,0003
9	Glucose (10 g%, -0,00349) NaCl (5 g%, -0,00520) Harnstoff (20 g%, -0,00382) Lysin (10 g%, -0,00642) Cholinchlorid (15 g%, -0,00415)	0,0010	0,0037 ± 0,0006
10	Glucose (10 g%, -0,00349) NaCl (7,5 g%, -0,00736) Harnstoff (20 g%, -0,00382) Lysin (10 g%, -0,00642) Cholinchlorid (15 g%, -0,00415)	-0,0011 *	0,0009 ± 0,0004

* Bei der Berechnung ergab sich ein theoretischer negativer Wert.

Diskussion

Methodisches Vorgehen

Die beschriebenen Van Slyke-Geräte erlauben die Messung von O_2 -Löslichkeitskoeffizienten in einer 2 ml Probe von Lösungen jeder Art, sofern diese in einer Äquilibrierereinrichtung mit einem vorgegebenen O_2 -Partialdruck ins Gleichgewicht gesetzt werden können.

Der statistische Fehler, ausgedrückt als Standardabweichung des Einzelwertes einer Mehrfachbestimmung, liegt zwischen 0,0001 und 0,001 ml/ml atm. Das bedeutet, daß bei Messungen von einfach zu handhabenden Lösungen mit Absolutwerten von mehr als 0,010 ml/ml atm die Streuung der Einzelwerte zwischen $\pm 1\%$ und $\pm 5\%$ des Meßwertes beträgt.

Es ist offensichtlich, daß ein derartiger statistischer Fehler im Rahmen dieser Untersuchung als vollkommen zufriedenstellend zu betrachten ist.

Aufgrund der Eichung der Geräte, d. h. der laufend durchgeführten Vergleichsmessungen mit Aqua dest. (s. Methodik) können systematische Fehler bei der Messung ausgeschlossen werden. Es kann also davon ausgegangen werden, daß zumindest die dritte Stelle nach dem Komma der gemessenen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten als gesichert anzusehen ist.

Der Einfluß organischer Substanzen auf die O_2 -Löslichkeit in wäßrigen Systemen

Der im Rahmen dieser Untersuchung für die O_2 -Löslichkeit bzw. -Löslichkeitsänderung gemessene Summeneffekt soll im folgenden auf drei ursächlich verschiedene Grundphänomene zurückgeführt werden: Verminderung des partiellen Wasservolumens durch eine Substanz, Wasser als nichtlösender Raum und Adsorption von Sauerstoff.

Die Zugabe einer Substanz zu Wasser führt im einfachsten Fall zu einer der Konzentration proportionalen Verminderung des partiellen Wasservolumens, was zu einer entsprechenden Abnahme der O_2 -Löslichkeit für die Lösung führen muß. Dabei wird stillschweigend unterstellt, daß der Substanzraum selbst keine meßbare O_2 -Konzentration aufweist, d. h. als Lösungsraum für Sauerstoff nicht zur Verfügung steht.

Betrüge der Wasseranteil einer wäßrigen Lösung beispielsweise 50% (50 ml/100 ml), so müßte sich der O_2 -Löslichkeitskoeffizient auf die Hälfte des für Aqua dest. bekannten Wertes von 0,0241 ml/ml atm

reduzieren, also 0,0120 ml/ml atm. Tatsächlich kann für Harnstoff angenommen werden, daß die Verhältnisse auf diese einfache Weise beschrieben werden können. Vergleicht man nämlich in Tab. V die gemessenen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten mit denjenigen, die aufgrund des verbleibenden partiellen Wasservolumens berechnet wurden, so ergibt sich eine sehr gute Übereinstimmung. Damit wird der O_2 -Lösungsraum in Harnstofflösungen jeweils nur um den Betrag vermindert, den der Harnstoff als Volumen für sich beansprucht.

Liegt nun der O_2 -Löslichkeitskoeffizient einer wäßrigen Lösung niedriger als der Wert, der sich aufgrund des partiellen Wasseranteiles ergeben würde, so wird angenommen, daß der O_2 -Lösungsraum zusätzlich dadurch eingeschränkt worden ist, daß ein Teil Wasser als nichtlösender Raum für Sauerstoff anzusehen ist. Dieses ist bei praktisch allen echten Lösungen mehr oder weniger ausgeprägt der Fall und soll am Beispiel der Lysin-Lösungen verdeutlicht werden. Vergleicht man die in Tab. V berechneten und gemessenen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten, so wird deutlich, daß zusätzlich zur Verminderung des partiellen Wasservolumens ein beträchtlicher Wasseranteil vorhanden ist, der offensichtlich nicht als Lösungsraum für Sauerstoff zur Verfügung steht. Dabei kann anhand der hier geschilderten Befunde keine Aussage darüber gemacht werden (vgl. Einleitung), welches die Ursachen für dieses Phänomen sind.

Aus diesem Grunde wird hier von nichtlösendem Raum für O_2 (nonsolvent water) gesprochen, um zum Ausdruck zu bringen, daß ursächlich andere Phänomene für eine Erklärung in Betracht gezogen

Tab. V. Vergleich der gemessenen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten für 37 °C (ml/ml atm) von Harnstoff-, Lysin und γ -Globulin-Lösungen unterschiedlicher Konzentration (g/ml) mit den aufgrund des verbleibenden Wasseranteils (ml H_2O /ml) berechneten Werten (Dichte von Wasser vereinfachend mit 1,0 g/ml angenommen).

Substanz	Dichte [g/ml]	1 ml Lösung enthält		O_2 -Löslichkeit	
		ml H_2O	g Subst.	berechnet [ml/ml atm]	gemessen
Harnstoff	1,022	0,922	0,1	0,0222	0,0222
	1,053	0,853	0,2	0,0206	0,0206
	1,080	0,780	0,3	0,0188	0,0183
Lysin	1,019	0,919	0,1	0,0221	0,0177
	1,039	0,839	0,2	0,0202	0,0133
	1,060	0,760	0,3	0,0183	0,0092
γ -Globulin	1,023	0,923	0,1	0,0222	0,0232
	1,067	0,867	0,2	0,0209	0,0214

werden müssen (Hydratwasser, Exclusions-Phänomene, gebundenes, orientiertes oder immobilisiertes Wasser). Daß beträchtliche Wasserräume existieren, die zur Lösung von Sauerstoff nicht mehr zur Verfügung stehen, konnten Zander und Lang⁷ an gesättigten Lösungen von LiCl, CaCl₂ und AlCl₃ bei 37 °C zeigen, deren O₂-Löslichkeitskoeffizienten Werte von angenähert Null aufweisen (genaugenommen ein Wert von etwa 1% des Aqua dest.-Wertes), während der Wassergehalt der Lösungen zwischen 50 und 65 Gew.% liegt.

Unabhängig von oder zusätzlich zu einer Einschränkung des O₂-Lösungsraumes durch die soeben beschriebenen Phänomene kann im Falle von wäßrigen Lösungen von Makromolekülen ein weiteres Phänomen auftreten, nämlich das der O₂-Adsorption. Im Gegensatz zur O₂-Absorption soll unter O₂-Adsorption eine über die Konzentration in Aqua dest. hinausgehende Anreicherung von Sauerstoff im Phasengrenzgebiet verstanden werden, wobei das Makromolekül als zweite Phase aufgefaßt wird (vgl. ref. 30). Ob dabei die Oberfläche des Makromoleküls allein oder auch Einschlüsse (mit Wasser gefüllte Zwischenräume zwischen Seitenketten, vgl. ref. 5) als Phasengrenze aufzufassen sind, kann nicht entschieden werden. Daß für Gase derartige Adsorptionsphänomene existieren, wurde bereits von Geffcken³¹ am Beispiel von anorganischen Zweiphasen-Systemen nachgewiesen. Für den Fall der Proteine muß auf dieses Phänomen noch genauer eingegangen werden (s. u.).

Überwiegt die Adsorption von Sauerstoff gegenüber der Verminderung der O₂-Löslichkeit infolge der Einschränkung des partiellen Wasservolumens, so liegt der O₂-Löslichkeitskoeffizient oberhalb des Wertes, der sich allein aufgrund des ersten Phänomens ergeben würde. Als Beispiel für eine derartige Substanzgruppe wurden in Tab. V Lösungen von γ -Globulin aufgenommen.

Die gemessenen O₂-Löslichkeitskoeffizienten liegen immer über den Werten, die mit Hilfe des verbleibenden Wasseranteiles ermittelt werden können.

In diesem Falle muß man von der Vorstellung eines heterogenen Systems ausgehen, dessen O₂-Löslichkeit sich aus O₂-Absorption und O₂-Adsorption zusammensetzt. Dabei kann sich dann auch ein Wert für die O₂-Löslichkeit ergeben, der oberhalb des Wertes von Aqua dest. liegt.

Die Verwendung einer e-Funktion zur Beschreibung der Änderung der O₂-Löslichkeit in Abhängig-

keit von der Substanzkonzentration, wie es von Setschenow²⁹ vorgeschlagen wurde, erwies sich für die Beschreibung der hier mitgeteilten Daten als sehr hilfreich. In allen Fällen konnte das Verhalten der O₂-Löslichkeit hochsignifikant mit dieser Funktion beschrieben werden. Andere empirische Ansätze³²⁻³⁴, die von Levin³⁴ mit diesem verglichen wurden, bieten keine zusätzlichen Vorteile.

Während bei allen echten Lösungen immer eine hochsignifikante exponentielle Abnahme der O₂-Löslichkeit in Abhängigkeit von der Substanzkonzentration beobachtet wird, was auf Wechselwirkungen zwischen gelöster Substanz und Lösungsmittel hindeutet, zeigen zum Beispiel alle Protein-Lösungen einen Verlauf der O₂-Löslichkeitsänderung, der als quasi linear zu beschreiben ist. Die zugehörigen Korrelationskoeffizienten unterschieden sich praktisch nicht, ob eine lineare oder exponentielle Funktion zur Approximation vorgegeben wurde. Aus diesem Verhalten kann indirekt auch abgeleitet werden, daß es sich bei diesen Lösungen um Zweiphasen-Systeme handelt.

Die Beschreibung der O₂-Löslichkeitsänderung mit einer einfachen e-Funktion findet allerdings dort ihre Grenze, wo die Gesamtkonzentration der Substanzen sehr hohe Werte aufweist. Dies gilt nicht nur für Einzelsubstanzen (s. o. Lysin), wenn die Löslichkeit extrem niedrige Werte annimmt, sondern auch unter gleichen Bedingungen für komplex zusammengesetzte Lösungen mit niedriger O₂-Löslichkeit (s. Tab. IV).

O₂-Löslichkeitsänderung durch Kohlenhydrate und verwandte Verbindungen

Neben der Tatsache, daß alle untersuchten Substanzen dieser Gruppe eine exponentielle Abnahme der O₂-Löslichkeit in Abhängigkeit von der Substanzkonzentration aufweisen, muß besonders hervorgehoben werden, daß dieses relativ einheitliche Verhalten trotz sehr großer Unterschiede im Molekulargewicht (von 180 bei Glucose bis ca. 1 Million bei Glykogen) zu beobachten ist. Daß nicht die Anzahl der Moleküle, sondern die zugefügte Substanzmenge die entscheidende, die Gaslöslichkeit in Kohlenhydratlösungen bestimmende Größe darstellt, hatte bereits Hüfner³⁵ für N₂ und H₂ bei 20 °C für verschiedene Zucker nachgewiesen. Aufgrund des Verhaltens der Gaslöslichkeit in Glucose-, Saccharose- und Glycerinlösungen führte Müller³⁶ dies Verhalten auf eine einheitliche Hydratisierung aller Kohlenhydrate zurück.

Kohlenhydrate und verwandte Verbindungen können daher als echte Lösungen zu der Gruppe von Substanzen gezählt werden, die einen bestimmten Wasseranteil als nichtlösenden Raum für O_2 aufweisen. Folgerichtig muß man mit einer exponentiellen Abnahme der O_2 -Löslichkeit in Abhängigkeit von der Substanzkonzentration rechnen, wie sie bereits von McArthur³⁷ für Saccharose bei 25 °C und von Joslyn und Supplee³⁸ für verschiedene Zucker nachgewiesen wurde. Eine mögliche Hydratisierung, für Saccharoselösungen von Steiner³⁹ am Beispiel von H_2 nachgewiesen, müßte mit zunehmender Konzentration abnehmen, wie Philip⁸ angab.

Am Beispiel der Saccharose soll das Ausmaß der Einschränkung des Lösungsraumes durch eine mögliche Hydratbildung abgeschätzt werden. Für eine 20 g-prozentige Lösung (Dichte = 1,072 g/ml) würde ein Wassergehalt von 0,872 ml H_2O /ml Lösung verbleiben, der einem Löslichkeitskoeffizienten von 0,0210 ml/ml atm entspräche. Der gemessene Wert aber liegt um 0,0021 ml/ml atm unterhalb dieses Wertes (0,0189 ml/ml atm), so daß offensichtlich eine zusätzliche Einschränkung des Lösungsraumes für O_2 vorliegt, die 0,44 g H_2O /g Saccharose bzw. 8,3 mol H_2O /mol Saccharose beträgt.

Die entsprechenden Werte für eine 10 g-prozentige Lösung (Dichte = 1,036 g/ml) und eine 30 g-prozentige Lösung (Dichte = 1,111 g/ml) würden lauten: 8,7 mol H_2O /mol Saccharose für die 10 g-prozentige und 7,2 mol H_2O /mol Saccharose für die 30 g-prozentige Lösung. Diese Abschätzung zeigt deutlich, daß für Sauerstoff bei 37 °C Werte gefunden wurden, die mit den von Philip⁸ angegebenen Werten für H_2 in Saccharoselösungen vergleichbar sind: dort wurden Werte zwischen 6 und 7 mol/mol angegeben. Auffällig ist weiter, daß die Einschränkung des Lösungsraumes für O_2 mit Zunahme der Substanzkonzentration abnimmt.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Substanzen fallen die Lösungen von Glucosamin, Chondroitinsulfat und Glucose-1-phosphat deutlich durch eine sehr viel stärker ausgeprägte Löslichkeitserniedrigung auf. Dieser Befund ist deshalb von Bedeutung, weil die ersten beiden Substanzen dieser Gruppe typische Bausteine des Bindegewebes darstellen und damit strukturelle Aufgaben zu übernehmen haben (vgl. ref. 40).

O_2 -Löslichkeitsänderung durch Proteine

Bei allen hier untersuchten Proteinen handelt es sich um Plasmaproteine und um Hämoglobin.

Für das Beispiel des Hämoglobins hatte schon Barcroft⁴¹ die Frage aufgeworfen, „ob wir ein System vor uns haben, welches aus einer aus Wasser mit darin gelöstem Sauerstoff bestehenden flüssigen Phase und einer festen aus Hämoglobin bestehenden Phase besteht, oder ob es sich um ein System mit einer einzigen flüssigen Phase handelt, wo der Sauerstoff und das Hämoglobin beide in Lösung sind.“ Gary Bobo¹² hingegen spricht von einer Phase freien Wassers und einer zweiten Phase hydratisierten Hämoglobins.

Da hier die Änderung der O_2 -Löslichkeit in Proteinlösungen zwanglos mit einer linearen Beziehung beschrieben werden konnte, soll im folgenden davon ausgegangen werden, daß es sich bei kolloidalen Proteinlösungen um ein heterogenes System von zwei Phasen handelt.

Kann man daraus folgern, daß an der Oberfläche der dispersen Phase einer derartigen Proteinlösung eine nennenswerte O_2 -Adsorption stattfindet, wie es zu erwarten wäre³⁰?

Stellvertretend für alle Proteine wurde diese Frage am Beispiel des γ -Globulins in Tab. V beschrieben. Die gemessenen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten liegen immer über den mit dem verbleibenden Wassergehalt berechneten Werten. Zu praktisch dem gleichen Verhältnis muß man kommen, wenn man von einem spezifischen partiellen Volumen der Proteine von 0,733 mg/g (s. ref. 42) ausgeht und damit den verbleibenden Wasseranteil und die entsprechende O_2 -Löslichkeit berechnet (für die 20 g-prozentige Globulinlösung in Tab. V ein Wert von 0,0206 ml/ml atm).

Berücksichtigt man zusätzlich noch eine Hydratisierung der Proteine, so wird klar, daß die relativ hohen O_2 -Löslichkeitskoeffizienten nur mit dem Phänomen der O_2 -Adsorption erklärt werden können.

Daß Proteine entsprechend ihrem hohen Gehalt an polaren Gruppen in wäßriger Lösung in hydratisierter Form vorliegen, wird heute allgemein angenommen. Strittig ist allerdings, welcher Art diese Wasserbindung ist und welchen Betrag sie ausmacht (Übersicht bei ref. 42). Für diese Untersuchung dürfte es genügen, einen etwaigen Wert für den Betrag des Hydratwassers anzugeben. Für eine Reihe sehr unterschiedlicher Proteine kann man etwa von 0,3 g H_2O pro g Protein ausgehen, wobei unterschiedliche Methoden der Bestimmung (vgl. ref. 13)

nicht berücksichtigt wurden (s. ref. 13, 43–45; Übersicht bei ref. 5, 42).

Dieser Wert für den Betrag des Hydratwassers stimmt erstaunlich gut mit dem Wert von 0,28 g H₂O pro g Protein überein, den Fisher⁴⁶ für eine große Anzahl von Proteinen aus der Aminosäurezusammensetzung derselben errechnet hat, wobei ein Proteinmolekül von einer monomeren Wasserschicht umgeben wird. Allerdings ist dieser Wert deutlich höher als der Betrag, der aus Kernresonanzuntersuchungen als Anteil des nicht mehr frei beweglichen Wassers ermittelt wird (z. B. 0,02 g H₂O pro g Protein, ref. 47).

Für das oben genannte Beispiel des γ -Globulins würden sich die Verhältnisse wie folgt verändern.

Eine 20 g-prozentige Lösung würde einen verbleibenden Wasseranteil von 0,807 ml/ml aufweisen, wenn pro 1 g Globulin ein Betrag von 0,3 g bzw. ml (Dichte gleich 1 gesetzt) als Hydratwasser als nicht-lösender Raum für O₂ angenommen wird (vgl. Tab. V: 0,867 ml/ml – 0,06 ml/ml). Der daraus resultierende Löslichkeitskoeffizient würde 0,0194 ml/ml atm betragen, während ein Wert von 0,0214 ml/ml atm gemessen wurde.

Die Adsorption von Gasen in Proteinlösungen, die für CO₂ an Plasmaproteine⁴⁸ und für Xe¹³³ an Albumin⁴⁹ nachgewiesen wurde, fällt beim Hämoglobin besonders stark auf.

Der Nachweis, daß die Gaslöslichkeit in Aqua dest. durch die Anwesenheit von Hämoglobin erhöht wird, wurde wiederholt an Vollblut, Erythrocyten oder Hb-Lösungen geführt^{50–56}. Für Sauerstoff bedeutet das, daß der O₂-Löslichkeitskoeffizient in Erythrocyten über dem Wert von Aqua dest. liegt.

Die Frage, ob es sich bei dieser O₂-Löslichkeits-erhöhung um eine echte Adsorption handelt, – in diesem Falle wäre eine Temperatur-, Konzentrations- und Partialdruckabhängigkeit zu fordern (s. ref. 30) – kann heute nicht beantwortet werden.

Während in dieser Untersuchung in Übereinstimmung mit anderen Autoren die Konzentrationsabhängigkeit positiv nachgewiesen wurde, gelang das bisher für die Druckabhängigkeit nicht.

Conant⁵⁴ konnte am Beispiel des N₂ zeigen, daß die zusätzlich absorbierte bzw. adsorbierte Gasmenge bei kleinen Partialdrücken größer war als bei höheren Partialdrücken, was als Sättigungsverhalten der Hämoglobinoberfläche im Sinne einer Adsorption gedeutet wurde.

Den gleichen Befund erhob Yang⁵¹ für Sauerstoff. Im Gegensatz dazu konnte die Arbeitsgruppe um Van Slyke eine lineare Beziehung zwischen zusätzlich adsorbiertem Gas und Partialdruck nachweisen^{52, 53}, was eindeutig gegen eine echte Adsorption sprach.

Trotzdem soll hier der Begriff Adsorption im Sinne einer Konzentrationserhöhung benutzt werden, die mit größter Wahrscheinlichkeit in der Phasengrenze ihre Ursache hat. Der infolge Adsorption zusätzlich gefundene Sauerstoff macht einen Betrag aus, der kurz abgeschätzt werden soll.

Unter der Annahme eines spezifischen Volumens von 0,75 ml/g für Hämoglobin (Übersicht bei ref. 57) und eines Anteiles von 0,3 g H₂O/g für Hydratbildung des Hämoglobins (Übersicht ebenfalls bei ref. 57) müßte sich der Lösungsraum für O₂ soweit vermindern, daß für den O₂-Löslichkeitskoeffizienten einer 20 g-prozentigen Hämoglobinlösung ein Wert von 0,0190 ml/ml atm (= 79% des Aqua dest.-Wertes) zu erwarten wäre.

Tatsächlich aber wurde ein Wert von 0,0245 ml/ml atm gemessen (s. Tab. III und Abb. 2), woraus sich eine Löslichkeitserhöhung pro 1 g Hb und 1 atm von 0,03 ml O₂ ergibt. Wegen seiner Funktion im Atemgastransport kann angenommen werden, daß das Hämoglobin in der Gruppe der Proteine eine Sonderstellung einnimmt. Diese wird besonders eindrucksvoll durch den Befund veranschaulicht, daß sowohl in Hämoglobin- als auch Hämoglobin-Lösungen (21 °C, 700 mmHg Partialdruck) pro 1 g Hb etwa 0,7 ml Xenon zusätzlich adsorbiert werden⁴⁹. Das entspricht immerhin etwa der Hälfte des maximalen O₂-Bindungsvermögens des Hämoglobins.

O₂-Löslichkeitsänderung durch Aminosäuren

Die gemessenen O₂-Löslichkeitskoeffizienten von Aminosäurelösungen unterscheiden sich insofern ganz wesentlich von denen der besprochenen Proteinlösungen, als eine viel stärker ausgeprägte Löslichkeitsdepression zu beobachten ist. Schon Hüfner³⁵ hatte nachgewiesen, daß die N₂- und H₂-Löslichkeit in Alanin- und Glycocoll-Lösungen eine sehr viel größere Erniedrigung erfuhr, als er dies für andere Substanzen (Harnstoff, verschiedene Zucker) gefunden hatte. Am Beispiel Lysin (s. Tab. V) soll gezeigt werden, daß diese Abnahme der O₂-Löslichkeit auf eine zusätzliche Vergrößerung des nichtlösenden Raumes zurückzuführen ist. Bereits bei einer Konzentration von 30 g% beträgt der gemessene Lös-

lichkeitskoeffizient nur noch die Hälfte des Wertes, der aufgrund des verbleibenden Wasseranteiles berechnet werden kann.

Der aus diesen Daten zu ermittelnde Anteil von Hydratwasser, berechnet unter der Annahme, daß das Hydratwasser mit dem nichtlösenden Raum identisch ist, betrüge dann 1,25 ml H₂O pro 1 g Lysin. Dies würde eine gegenüber den Proteinen etwa viermal größere Hydrathülle bedeuten.

Im Falle einer Lysin-Konzentration von 50 g% nimmt die mögliche Hydrathülle allerdings bereits deutlich ab, da eine Hydrathülle von 1,25 ml nicht möglich wäre.

Bei einem Wassergehalt von 0,598 ml/ml (Dichte = 1,098 g/ml) wäre der verbleibende Wasseranteil bereits aufgebracht, der Löslichkeitskoeffizient beträgt allerdings 0,0024 ml/ml atm. Die auf diesem Wege grob abgeschätzten Hydratwassermengen, abgeschätzt unter der Annahme, daß Hydratwasser mit nichtlösendem Raum identisch wäre, nämlich 10,2 mol H₂O/mol Lysin (30 g%) bzw. 8,1 mol H₂O/mol Lysin (50 g%) sind mit den Angaben von Bull und Breese¹³ gut vergleichbar. Diese Autoren geben an, daß (mit Ausnahme der Aminogruppe) die Anzahl polarer Gruppen den Betrag des Hydrat-

wassers bestimmen, wobei etwa 6 mol H₂O pro mol polarer Gruppe zu veranschlagen seien.

O₂-Löslichkeitsänderung durch verschiedene Substanzen in komplex zusammengesetzten Systemen

Bei zehn untersuchten Lösungsgemischen zeigt sich, daß die Einschränkung des O₂-Lösungsraumes durch Einzelsubstanzen additiv in die Gesamtlöslichkeit eingeht. Nur so ist die relativ gute Übereinstimmung zwischen gemessenen und berechneten Werten in Tab. IV zu erklären. Allerdings zeigt sich dabei eine Tendenz, daß bei den untersuchten Lösungen die berechneten Werte immer unterhalb den gemessenen Werten liegen. Dieser Befund dürfte darauf hinweisen, daß mehrere gelöste Substanzen gemeinsame Hydrathüllen aufweisen. Dies wird besonders dann deutlich, wenn die Konzentrationen sehr hohe Werte und damit niedrige Löslichkeitskoeffizienten aufweisen.

Auch hier findet die Beschreibung der O₂-Löslichkeitsänderung mit einer einfachen e-Funktion ihre Begrenzung, da offenbar zusätzliche Wechselwirkungen zwischen gelösten Substanzen und Lösungsmittel auftreten.

- ¹ W. Henry, Phil. Trans. Roy. Soc. **93**, 29 [1803].
- ² R. Bunsen, Phil. Mag. **9**, 116 [1855].
- ³ A. E. Markham u. K. A. Kobe, Chem. Rev. **28**, 519 [1941].
- ⁴ R. Battino u. H. L. Clever, Chem. Rev. **66**, 395 [1966].
- ⁵ G. Hübner, K. Jung u. E. Winkler, Die Rolle des Wassers in biologischen Systemen, Akademie Verlag, Berlin 1970.
- ⁶ R. Zander, Advan. Expt. Med. Biol. [1975] (im Druck).
- ⁷ R. Zander u. W. Lang, Pflügers Arch. **355**, R 37 [1975].
- ⁸ J. C. Philip, J. Chem. Soc. **91**, 711 [1907].
- ⁹ J. L. Stoddard, J. Biol. Chem. **71**, 629 [1926].
- ¹⁰ G. M. Schwab u. E. Berninger, Z. phys. Chem. **138**, 55 [1928].
- ¹¹ A. G. Ogston, Ann. Rev. Biochem. **24**, 181 [1955].
- ¹² C. M. Gary Bobo, J. Gen. Physiol. **50**, 2547 [1967].
- ¹³ H. B. Bull u. K. Breese, Arch. Biochem. Biophys. **128**, 488 [1968].
- ¹⁴ H. B. Bull, An Introduction to Physical Biochemistry (2nd Ed.), F. A. Davis Comp., Philadelphia 1971.
- ¹⁵ A. G. Ogston, Fed. Proc. **25**, 986 [1966].
- ¹⁶ T. C. Laurent, The Chemical Physiology of Mucopolysaccharides (G. Quintarelli, ed.), Little, Brown and Comp., Boston 1968.
- ¹⁷ G. W. F. H. Borst-Pauwels u. D. A. Goldstein, J. Gen. Physiol. **56**, 180 [1970].
- ¹⁸ D. D. Van Slyke u. J. M. Neill, J. Biol. Chem. **61**, 523 [1924].
- ¹⁹ D. Laue, Pflügers Arch. ges. Physiol. **254**, 142 [1951].
- ²⁰ C. Christoforides u. J. Hedley-Whyte, J. Appl. Physiol. **26**, 239 [1969].
- ²¹ D. D. Van Slyke u. J. Plazin, Micromanometric Analyses, Williams and Wilkins Comp., Baltimore 1961.
- ²² C. Albers, in: Klinisch-physiologische Untersuchungsmethoden, Thieme, Stuttgart 1972.
- ²³ R. Zander u. R. Euler, in: Measurement of Oxygen (H. Degn, I. Balsler, and R. Brook, ed.), Elsevier Scientific Publishing Comp., Amsterdam 1976.
- ²⁴ F. S. Orcutt u. M. H. Seevers, J. Biol. Chem. **117**, 501 [1937].
- ²⁵ R. Zander, Res. Exp. Med. **164**, 97 [1974].
- ²⁶ D. M. Maharajh u. J. Walkley, Nature **236**, 165 [1972].
- ²⁷ H. A. Pray, C. E. Schweickert u. B. H. Minnich, Ind. Eng. Chem. **44**, 1146 [1952].
- ²⁸ W. Schröder, Naturwissenschaften **55**, 542 [1968].
- ²⁹ J. Setschenow, Z. phys. Chem. **4**, 117 [1889].
- ³⁰ R. Brdicka, Grundlagen der physikalischen Chemie (5. Aufl.), Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1965.
- ³¹ G. Geffcken, Z. phys. Chem. **49**, 257 [1904].
- ³² V. Gordon, Z. phys. Chem. **18**, 1 [1895].
- ³³ H. Euler, Z. phys. Chem. **49**, 303 [1904].
- ³⁴ M. Levin, Z. phys. Chem. **55**, 513 [1906].
- ³⁵ G. Hüfner, Z. phys. Chem. **57**, 611 [1907].
- ³⁶ C. Müller, Z. phys. Chem. **81**, 483 [1913].
- ³⁷ C. G. MacArthur, J. Phys. Chem. **20**, 495 [1916].
- ³⁸ M. A. Joslyn u. H. Supplee, Food Res. **14**, 209 [1949].
- ³⁹ P. Steiner, Wied. Ann. **52**, 275 [1894].
- ⁴⁰ A. G. Ogston, Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix (E. A. Balazs, ed.), Academic Press, London-New York 1970.
- ⁴¹ J. Barcroft, Die Atmungsfunktion des Blutes. II. Hämoglobin. Monographien aus dem Gesamtgebiet der Physiologie der Pflanzen und der Tiere, Bd. **18**, Springer, Berlin 1929.

- ⁴² H. E. Schultze u. J. F. Heremans, *Molecular Biology of Human Proteins, Vol. I, Nature and Metabolism of Extracellular Proteins*, Elsevier Publishing Co., Amsterdam-London-New York 1966.
- ⁴³ H. B. Bull, *J. Amer. Chem. Soc.* **66**, 1499 [1944].
- ⁴⁴ J. T. Edsall, *The Proteins, Vol. 1, B* (H. Neurath and K. Bailey, eds.), Academic Press, New York 1953.
- ⁴⁵ H. B. Bull u. K. Breese, *Arch. Biochem. Biophys.* **137**, 299 [1970].
- ⁴⁶ H. F. Fisher, *Biochim. Biophys. Acta* **109**, 544 [1965].
- ⁴⁷ O. K. Daszkiewicz, J. W. Hennel u. B. Lubas, *Nature* **200**, 1006 [1963].
- ⁴⁸ D. D. Van Slyke, J. Sendroy, A. B. Hastings u. J. M. Neill, *J. Biol. Chem.* **78**, 765 [1928].
- ⁴⁹ H. L. Conn, *J. Appl. Physiol.* **16**, 1065 [1961].
- ⁵⁰ A. Findlay u. H. J. M. Creighton, *Biochem. J.* **5**, 294 [1911].
- ⁵¹ E. F. Yang, *Proc. Exp. Biol. Med.* **30**, 437 [1923].
- ⁵² J. Sendroy, R. T. Dillon u. D. D. Van Slyke, *J. Biol. Chem.* **105**, 597 [1934].
- ⁵³ D. D. Van Slyke, R. T. Dillon u. R. Margaria, *J. Biol. Chem.* **105**, 571 [1934].
- ⁵⁴ J. B. Conant u. N. D. Scott, *J. Biol. Chem.* **68**, 107 [1926].
- ⁵⁵ J. Grote u. G. Thews, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **276**, 142 [1962].
- ⁵⁶ C. Christoforides u. J. Hedley-Whyte, *J. Appl. Physiol.* **27**, 592 [1969].
- ⁵⁷ F. Kreuzer, *Helv. Physiol. Acta Suppl.* **IX** [1953].