

Notizen

**Die $p\text{CO}_2$ -/ $p\text{O}_2$ -Optode:
Eine neue $p\text{CO}_2$ - bzw. $p\text{O}_2$ -Meßsonde zur Mes-
sung des $p\text{CO}_2$ oder $p\text{O}_2$ von Gasen und
Flüssigkeiten**

The $p\text{CO}_2$ -/ $p\text{O}_2$ -Optode: A New Probe for Measure-
ment of $p\text{CO}_2$ or $p\text{O}_2$ in Fluids and Gases

D. W. Lübbers und N. Opitz

Max-Planck-Institut für Systemphysiologie, Dortmund

(Z. Naturforsch. 30 c, 532–533 [1975]; eingegangen
am 5. März 1975)

Fluorescence Photometry, Oxygen Pressure, Carbondioxide
Pressure, Gas Analysis, Blood Gases

To measure $p\text{O}_2$ or $p\text{CO}_2$ in gases or fluids the fluorescence indicators pyrene butyric acid or β -methylumbelliferon were used, which were separated from a measuring medium by a gas-permeable membrane. For $p\text{CO}_2$ the pH changes in NaHCO_3 solution were monitored by methylumbelliferon. Changes in its fluorescence signal, S , were measured at λ (emission) = 445 nm. Excitation was brought about by light of wavelength λ_1 = 318 nm (fluorescence signal S_1), and λ_2 = 357 nm (fluorescence signal S_2). Drawing $\lg(S_2/S_1)$ against $\lg(p\text{CO}_2 - 1)$, one obtains a straight line between a $p\text{CO}_2$ of 10 and 70 Torr. The response time is about 3 to 4 s (90%). For $p\text{O}_2$, pyrene butyric acid is used (λ (excitation) = 342 nm; λ (emission) = 395 nm). A linear increase in $p\text{O}_2$ between 0 and 300 Torr yields a linear increase in the reciprocal fluorescence signal. The response time is about 3 s (90%).

Mit Hilfe eines korrigiert messenden Spektrofluorometers nach Boldt und Lübbers² gelang es, eine optische Methode zur $p\text{CO}_2$ - bzw. $p\text{O}_2$ -Messung zu entwickeln. Dazu wurde eine Meßsonde, die „ $p\text{CO}_2$ -/ $p\text{O}_2$ -Optode“ konstruiert (Abb. 1), bei der es möglich ist, eine Fluoreszenzindikatorlösung über eine Membran mit dem zu messenden Medium in Verbindung zu bringen, z.B. zu begasen. Die Eichung und experimentelle Erprobung erfolgte

mit Eichgasgemischen bekannter Zusammensetzung.

Für die $p\text{CO}_2$ -Optode verwendeten wir den Fluoreszenzindikator β -Methylumbelliferon puriss. (Fluka AG, Schweiz), ein Coumarin-Derivat, gesättigt gelöst in 10^{-3} M NaHCO_3 bei $t = 21^\circ\text{C}$, das die spektrale Verteilung der korrigierten Anregungsspektren (λ (emission) = 445 nm) in Abhängigkeit vom pH-Wert ändert². Die Auswertung der Spektren in einer Eichkurve erfolgt mittels des Formfaktors $F = S_2(\lambda_2)/S_1(\lambda_1)$ an zwei Wellenlängen (λ_1, λ_2), zwischen denen die Änderung der korrespondierenden Signale (S_1, S_2) maximal ist. Durch diesen Modus der Auftragung sind die korrigierten Anregungsspektren gegen Änderungen der apparativen Verstärkung invariant. Analog zur $p\text{CO}_2$ -Elektrode nach Stow u. Randall¹⁴, Gertz u. Loeschke⁶ und anderen^{5, 9, 11, 12} findet in dem Indikatorlösungsraum der Optode (Schichtdicke ca. 10 μm , $\phi = 18$ mm), die Hydratation des gelösten CO_2 -Gases statt. Durch die nachfolgende Dissoziation der Kohlensäure wird der pH-Wert der Indikatorlösung geändert und damit die Form der Anregungsspektren. Anhand einer Eichkurve läßt sich somit der $p\text{CO}_2$ über die pH-Wertabhängigkeit der Anregungsspektren bestimmen.

Für die $p\text{O}_2$ -Optode verwendeten wir eine 10^{-2} M Lösung des Indikators Pyrenbuttersäure (Eastman Kodak Co., USA), in Dimethylformamid, dessen Fluoreszenz bei Begasung mit O_2 gelöscht wird^{10, 15}, wobei der $p\text{O}_2$ direkt aus der relativen Änderung der Spektren mittels einer Eichkurve berechnet werden kann. Da die korrigierten Anregungsspektren (λ (emission) = 395 nm) bei Variation des $p\text{O}_2$ sich nur durch einen konstanten Faktor f unterscheiden, erfolgt die Auswertung an einer Wellenlänge (λ'), bei der die Änderung des Signals (S') maximal ist.

Resultate

Bei logarithmischer Auftragung des Wertes ($p\text{CO}_2 - 1$) gegen den Formfaktor F (Abb. 2) findet sich im Bereich 1–70 Torr eine gute Linearität der $p\text{CO}_2$ -Optode. Die Reproduzierbarkeit ist auch nach 6 h zufriedenstellend. Verwendet man eine Teflon-6- μm -Membran, beträgt die Einstellzeit der $p\text{CO}_2$ -Optode 3–4 s (90% des Endwertes) gegenüber der üblicherweise verwandten $p\text{CO}_2$ -Elektrode mit 30–60 s¹. Durch Zugabe von Carboanhydrase ließ sich eine Einstellzeit der $p\text{CO}_2$ -Optode erhalten, die noch kleiner als 3–4 s war. Bei Verwendung von

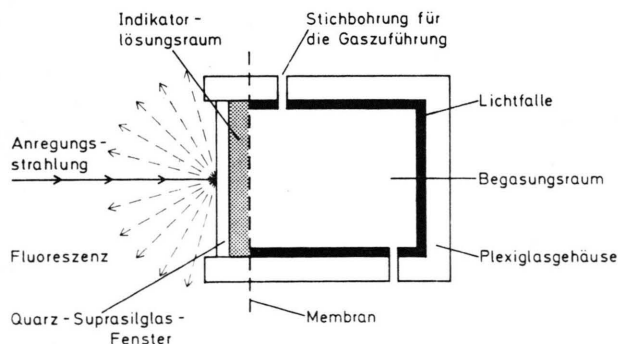


Abb. 1. Schematischer Querschnitt der $p\text{CO}_2$ -/ $p\text{O}_2$ -Optode (nicht maßstäblich; Erklärung siehe Text).
mund, Rheinlanddamm 201.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. D. W. Lübbers,
Max-Planck-Institut für Systemphysiologie, D-4600 Dort-

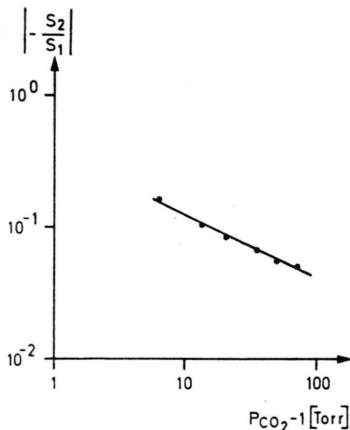


Abb. 2. Eichkurve der $p\text{CO}_2$ -Optode. (S_1, S_2 = Fluoreszenzintensität bei der Wellenlänge $\lambda(\text{emission}) = 445 \text{ nm}$, wenn die Anregung bei $\lambda_1 = 318 \text{ nm}$ und $\lambda_2 = 357 \text{ nm}$ erfolgt.)

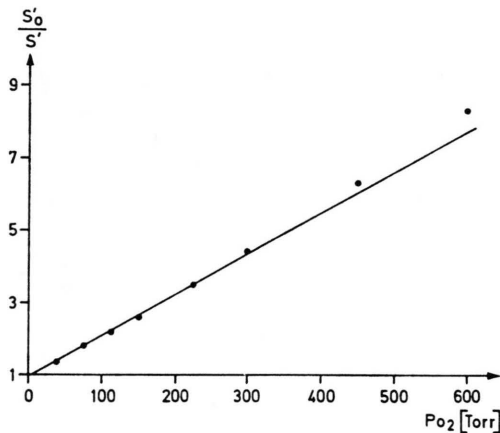


Abb. 3. Eichkurve der $p\text{O}_2$ -Optode. (S' = Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit vom Sauerstoffdruck; $S_0 = S'$ bei einem $p\text{O}_2$ von 0 Torr; $\lambda(\text{excitation}) = 342 \text{ nm}$; $\lambda(\text{emission}) = 395 \text{ nm}$.)

12- μm -Teflonmembranen steigt die Einstellzeit der $p\text{CO}_2$ -Optode etwa auf das Doppelte an. Der mittlere Fehler des Einstellwertes σ (Standardabweichung) bei einem $p\text{CO}_2$ von 36,5 Torr wurde aus 10 Aufnahmen zu $\sigma = \pm 2\%$ bestimmt. Bei $p\text{CO}_2$ -

Werten, die größer als 70 Torr sind, nimmt die Empfindlichkeit der Meßanordnung ab, da die pH-Werte im Grenzbereich des Indikators liegen. Hier müßte ein anderer Indikator oder eine Indikatormischung verwandt werden.

Trägt man bei der $p\text{O}_2$ -Messung in einer Eichkurve die reziproke Fluoreszenzintensität S' gegen den $p\text{O}_2$ auf (mit S'_0 = Fluoreszenzintensität bei $p\text{O}_2 = 0 \text{ Torr}$), so zeigt die $p\text{O}_2$ -Optode im Bereich 0–300 Torr gute Linearität (Abb. 3), d. h., die Fluoreszenzlöschung von Pyrenbuttersäure durch O_2 kann in diesem Bereich durch die Stern-Volmer-Löschgleichung¹³ $S'_0 = S'(1 + K \cdot p\text{O}_2)$ beschrieben werden. Messungen mit 6- μm -Teflonmembranen ergaben Einstellzeiten von 2–3 s (90% des Endwertes). Im Gegensatz zu $p\text{O}_2$ -Elektroden^{3, 8} werden die $p\text{O}_2$ -Meßwerte nicht durch O_2 -Eigenverbrauch verfälscht. Die Standardabweichung bei einem $p\text{O}_2$ von 155 Torr wurde aus 10 Aufnahmen zu $\sigma = \pm 1,3\%$ bestimmt. Nach 6 h läßt sich eine geringe Abnahme der Empfindlichkeit erkennen (ca. 5%).

Das Meßprinzip der Optode läßt sich immer dann anwenden, wenn geeignete Indikatoren vorhanden sind, die in Kontakt mit dem zu messenden Medium gebracht werden können. Gelingt es darüber hinaus, den Indikator in der Membran zu verankern oder hinter einer ionendurchlässigen Membran festzuhalten, so können mit der Optode z. B. auch H^+ -Ionen (mit β -Methylumbelliferon) oder Ca^{2+} -Ionen-Messungen (z. B. mit Äquorin) durchgeführt werden. Wird die Optode auf einem Lichtleiter angebracht, so lassen sich die Messungen auch an schwer zugänglichen Stellen durchführen. Analog zur polarographischen $p\text{O}_2$ -Elektrode läßt sich die Optode auch bei der Enzymelektrode⁴ verwenden. Bei der praktischen Anwendung kann man sich auf die Messung bei den charakteristischen Wellenlängen beschränken. Entsprechende Versuche sind im Gange. Da bei der Optode die schwierige Wartung der Platinelektrode und der Glaselektrodenkette wegfällt, ist zu hoffen, daß nach dem Optoden-Meßprinzip eine leichter zu bedienende Analysenvorrichtung entwickelt werden kann.

¹ H. Arndt, H. Brink, D. W. Lübbers u. A. H. J. Maas, Pflügers Arch. ges. Physiol. **283**, 282 [1966].

² M. Boldt, Ein korrigiert messendes Spektrofluorometer zur Messung an trüben Medien. Diss. Marburg 1971.

³ L. C. Clark, Jr., Amer. Soc. Art. Int. Organs **2**, 41 [1956].

⁴ L. C. Clark, Jr. u. E. W. Clark, Oxygen Transport to Tissue (eds. H. I. Bicher und D. F. Burley), pp. 127, Plenum Press, New York 1973.

⁵ R. Gambino, Clin. Chem. **7**, 336 [1961].

⁶ K. H. Gertz u. H. H. Loeschke, Naturwissenschaften **45**, 160 [1958].

⁷ U. Gleichmann u. D. W. Lübbers, Pflügers Arch. ges. Physiol. **271**, 456 [1960].

⁸ U. Gleichmann u. D. W. Lübbers, Pflügers Arch. ges. Physiol. **271**, 431 [1960].

⁹ C. H. Hertz u. B. Siesjö, Acta Physiol. Scand. **47**, 115 [1959].

¹⁰ J. A. Knopp u. I. S. Longmuir, Biochim. Biophys. Acta **279**, 393 [1972].

¹¹ J. W. Severinghaus u. A. F. Bradley, J. Appl. Physiol. **13**, 515 [1958].

¹² F. M. Snell, J. Appl. Physiol. **15**, 729 [1960].

¹³ O. Stern u. M. Volmer, Z. Phys. **20**, 183 [1919].

¹⁴ R. W. Stow u. B. F. Randall, Amer. J. Physiol. **179**, 678 [1954].

¹⁵ W. M. Vaughan u. G. Weber, Biochemistry **9**, 464 [1970].