

Neue Versuche zur Bestimmung der Sauerstoffcapacität des Blutfarbstoffs.

Von

G. Hüfner.

Im Skandinavischen Archive für Physiologie¹ hat Bohr in den letzten Jahren eine Reihe von Arbeiten über die Verbindung des Haemoglobins mit Sauerstoff bekannt gemacht, deren Gesammtergebniss er selbst² in folgenden Sätzen zusammenfasst:

1. „Es giebt verschiedene Haemoglobine, die unter gleichen äusseren Verhältnissen eine verschiedene Menge Sauerstoff absorbiren, im Uebrigen aber hinsichtlich des chemischen Charakters einander nahe stehen.

2. „Das in gewöhnlicher Weise aus dem Blute dargestellte krystalinische Haemoglobin hat eine wechselnde Zusammensetzung selbst bei einer und derselben Thierart.

3. „Es ist anzunehmen, dass das gewöhnliche Haemoglobin eine Mischung von Haemoglobinen mit verschiedener Sauerstoffabsorption ist.“

Der Inhalt dieser Sätze steht in auffallendem Widerspruch mit Allem, was bisher als wohlbegründetes Wissen von dem fraglichen Gegenstande gegolten hat.

In der That nicht ohne Grund hat man es bisher für einen feststehenden Erfahrungssatz gehalten, dass im gesunden, unverdorbenen Blute der gleichen Thierart stets nur einerlei³ Haemoglobin existire und functionire,

¹ Bd. III. S. 47; 69; 76; 101. — Vergleiche auch *Centralblatt für Physiologie*. Bd. IV. S. 249.

² A. a. O. S. 100.

³ Bei der Darstellung von Pferdeblutkrystallen im geschlossenen Cylinder beobachtet man allerdings sehr häufig das Auftreten grosser Mengen dunkelrother sechseckiger Tafeln gleichzeitig mit den schon längst bekannten mehr oder minder grossen Prismen. Betrachtet man aber ein Tröpfchen der Flüssigkeit, in welcher die Krystalle

dass Eisengehalt, Sauerstoffcapacität und Lichtextinctionsvermögen dieses Körpers zu einander gehörige, constante Grössen seien, und dass, wenn einmal eine dieser Grössen an einem aus dem Blute isolirten Praeparate einen stark veränderten Werth zeige, diese Abweichung vielmehr auf eine jener mannigfachen, bis heute zwar noch unaufgeklärten, in ihren Folgen aber täglich zu beobachtenden Veränderungen zurückzuführen sei, denen dieser wandelbare und in seiner Zusammensetzung complicirteste aller bekannten Stoffe bei seinem Verweilen ausserhalb des lebenden Blutes leider nur allzusehr unterworfen ist.

So ist es eine längst bekannte Thatsache, dass Jahre lang trocken aufbewahrtes Haemoglobin sich nur langsam, ja bisweilen selbst unvollständig, wieder in Wasser löst, und dass das Spectrum einer solchen Lösung nicht dasjenige des reinen Oxyhaemoglobins mehr ist; man weiss namentlich längst, dass beim langsamen Eintrocknen von Oxyhaemoglobinlösungen an der Luft, — besonders wenn dies bei einer Temperatur von über 0° geschieht —, eine allmähliche Umwandlung des Körpers in Methaemoglobin erfolgt, und dass gerade diese Substanz, die an das Vacuum bereits keinen Sauerstoff mehr abgibt, als Zwischenproduct auftritt, bevor der tiefere Zerfall des ursprünglichen Körpers in Eiweissstoffe und Haematin, unter gleichzeitiger Bildung mannigfacher Säuren, zu Stande kommt.

Es ist nicht schwer zu zeigen, dass es wahrscheinlich Gemenge und zwar wechselnde Gemenge eines solchen oder ähnlichen Umwandlungsproductes mit unzersetztem Oxyhaemoglobin gewesen sind, die Bohr als einheitliches chemisches Individuum hingenommen und als „ β -Oxyhaemoglobin“ bezeichnet hat. Dafür spricht ausser dem Verfahren, nach dem er die Substanz gewonnen, sowohl ihr geringer und noch dazu schwankender Gehalt an lose gebundenem Sauerstoff, wie — und das ist mit das Wichtigste und sofort entscheidend — die völlig veränderte Vertheilung des Lichtes im Spectrum ihrer Lösung.

„Trocknet man“, sagt Bohr,¹ „das gewöhnliche Oxyhaemoglobin ein, indem man es in dünner Schichte auf Glasplatten ausbreitet und es einem

suspendirt sind, ehe man es mit dem Deckgläschen bedeckt, unter dem Mikroskop, so sieht man, wie diese hexagonalen Täfelchen rasch zerfliessen, und wie an denselben Stellen, wo ihre Auflösung vor sich gegangen, plötzlich Büschel feiner, hellrother, prismatischer Krystalle anschiessen. Nencki hat vor einigen Jahren bewiesen, dass die dunkelrothen hexagonalen Tafeln Krystalle des sauerstofffreien Haemoglobins, die hellrothen Prismen dagegen solche des Oxyhaemoglobins sind (*Berliner Berichte*. Bd. XIX. 1886. S. 128). — Pferdeblut scheint ganz besonders geneigt zu sein, Krystalle des venösen Farbstoffs zu geben. Wir erhielten bei den Darstellungen von Pferdeblutkrystallen nach dem gewöhnlichen Verfahren, d. h. ohne sonderlichen Luftabschluss, meist beide Formen zugleich.

¹ *Centralblatt für Physiologie*. Bd. IV. 1890. S. 250.

geschwinden Luftstrom aussetzt, so erhält man ein krystallinisches Pulver (mit etwa 15 Proc. Wassergehalt), welches in Wasser löslich ist. Die durch Behandlung mit der Centrifuge geklärte¹ Lösung zeigt, mit dem Spectrometer gemessen, Absorptionsbänder von genau derselben Lage, wie das gewöhnliche Oxyhaemoglobin; im Spectrum treten keine fremden Linien auf, im Besonderen keine Methaemoglobinstreifen. Indess absorbirt das auf diese Weise getrocknete und wieder aufgelöste Haemoglobin, welches wir „ β -Haemoglobin“ nennen wollen, eine weit geringere Menge von Sauerstoff als früher, u. s. w.“

Anstatt das so gewonnene Material als eine neue und eigene Art von Haemoglobin, als sogenanntes „ β -Haemoglobin“, zu verkündigen, hätte Bohr aus dessen ganzem Verhalten vielmehr schliessen müssen, dass er hier ein verdorbenes, chemisch verändertes, jedenfalls kein reines und ursprüngliches Haemoglobin mehr unter den Händen hatte.

Schon eine flüchtige Untersuchung mit dem Spectrophotometer vermag über den Werth eines solchen Materiales sofort entscheidenden Aufschluss zu geben: denn niemals kommt, nach zahlreichen Messungen, die in den letzten Jahren beinahe täglich, sei es von mir selbst, sei es von meinen Schülern, mit meinem neuen Apparate² ausgeführt wurden, bei frischem, unverdorbenem Blute (von Rindern, Schweinen, Kaninchen) der Fall vor, dass im Spectrum seiner mit $\frac{1}{10}$ procentiger Sodalaugc bereiteteten und mit Luft geschüttelten Lösung der Quotient $\frac{s'_0}{s_0}$ oder, was dasselbe, der Quotient $\frac{A_0}{A'_0}$ ³ wesentlich kleiner, als 1.578 wäre. Denselben Werth ergaben aber unsere Messungen⁴ auch für ebenso bereitete Lösungen reiner Oxyhaemoglobinkrystalle, die frisch aus gesundem Rinderblute dargestellt waren; ja einen nahezu identischen Werth hatte auch bereits Torup bei seinen Untersuchungen „über die Bindung der Kohlensäure im Blute“⁵ für Lösungen von Oxyhaemoglobin aus Hundeblood festgestellt; wenigstens betrug derselbe nach Bohr's eigenem Citate⁶ $\frac{0.2022}{0.1275} = 1.585$.

¹ Warum musste es geklärt werden? — Reines, frisch dargestelltes Oxyhaemoglobin löst sich ohne Trübung in Wasser auf.

² *Zeitschrift für physik. Chemie.* Bd. III. 1889. S. 562.

³ Ich setze hier den Sinn dieser Bezeichnungen, da dieselben bereits in den Lehrbüchern Aufnahme gefunden, als bekannt voraus.

⁴ Vergl. die weiter unten, S. 137, über diese Messungen gegebenen ausführlichen Mittheilungen.

⁵ *Om Blodets Kulsyrebinding.* Kjöbenhavn 1887.

⁶ *Skandinavisk Archiv f. Physiologie.* Bd. III. S. 88.

Dagegen erscheint der Werth dieses Quotienten augenblicklich vermindert, sowie nur das erste Stadium von chemischer Umwandlung des gesunden Farbstoffs, d. i. festere Bindung des Anfangs lose gebundenen Sauerstoffs im Molecüle desselben begonnen hat. So fand ihn denn auch Bohr für sein „ β -Haemoglobin“ einmal nur $= \frac{0.3744}{0.3162} = 1.184$.¹ Für das „Absorptionsverhältniss“ desselben, die Grösse A , aber, bezogen auf $\lambda = 544$, erhielt er überhaupt keinen constanten, sondern stark wechselnde Werthe; nämlich bei dem einen Praeparate die Zahl 0.3162, bei einem anderen 0.2554; während Torup's mit dem Glan'schen Photometer in der gleichen Gegend angestellte Messungen für Lösungen reinen Oxyhaemoglobins vom Hund die Zahl 0.1275 ergeben hatten.²

Ebenso wie mit dem Lichtextinctionsvermögen verhält es sich mit der Menge des aus solchen Praeparaten noch auspumpbaren Sauerstoffs.

Zwei verschiedene Praeparate des „ γ -Oxyhaemoglobins“ lieferten Bohr nahezu gleiche Volumina Sauerstoff, nämlich 130.2 und 131.2^{ccm} auf 100^{grm} trockener Substanz;³ die aus diesen gewonnenen „ β -Oxyhaemoglobine“ dagegen, das erste 54.5, das andere 78.25^{ccm} (gleichfalls auf 100^{grm} trockener Substanz bezogen); das letztere also eine um mehr als 40 Procent grössere Menge, als das erste. Bohr's „ β -Oxyhaemoglobin“ ist eben selbst kein reines Individuum, sondern ein wechselndes Gemenge noch unzersetzten Oxyhaemoglobins mit chemisch bereits umgewandeltem Farbstoff.

Dass sich dieselbe Modification nach Bohr häufig „durch die gleichzeitige Einwirkung von Sauerstoff und Kohlensäure auf das Haemoglobin“ bilden soll,⁴ kann nur zur Bekräftigung des oben Gesagten dienen. Schon Lothar Meyer⁵ fand bekanntlich, dass Zusatz von Weinsäure zum Blute eine Verminderung der auspumpbaren Sauerstoffmenge um $\frac{4}{5}$ zur Folge hatte. Nun ist Kohlensäure eben auch eine Säure; sie mag zwar schwächer und langsamer wirken als Weinsäure, aber immerhin wird sie doch als Säure, nämlich zerstörend, wirken, und vollends wenn freier Sauerstoff gleichzeitig mit angreifen darf. Man vergleiche hierüber auch die Erfahrungen von Hoppe-Seyler, z. B. seine Aeusserungen in: Physiologische Chemie, Berlin 1881, S. 385, und besonders im Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 6. Aufl., Berlin 1893, S. 278, wo es wörtlich heisst: „schon die schwächsten Säuren zeigen baldige Einwirkung, auch Kohlensäure wirkt allmählich zersetzend.“

¹ *Skandinavisches Archiv für Physiologie*. Bd. III. S. 88.

² *Ebenda*.

³ A. a. O. S. 87.

⁴ A. a. O. S. 64 und 89.

⁵ *Die Gase des Blutes*. Inaugural-Dissertation. Göttingen 1857. S. 15.

Nicht minder bedenklicher Art aber als das „ β -Oxyhaemoglobin“ sind Bohr's „ α -“ und „ δ -Oxyhaemoglobin“; denn das α -Haemoglobin gewinnt er erst aus dem vermeintlichen β -Product durch Auspumpen von dessen Lösung „mit darauf folgendem Schütteln mit atmosphärischer Luft“¹ und die δ -Modification, die man hin und wieder in einprocentigen Lösungen antreffen und die etwa doppelt so viel Sauerstoff aufnehmen soll als das Oxyhaemoglobin (wahrscheinlich ist mit dem, was er hier Oxyhaemoglobin schlechtweg nennt, sein „ γ -Oxyhaemoglobin“ gemeint), ist ihm willkürlich darzustellen selber noch gar nicht geglückt.²

Vor all solchen Fehlschlüssen und irrthümlichen Aufstellungen bewahrt ein rechtzeitiger und sachverständiger Gebrauch des Spectrophotometers. Findet man bei irgend einer mit Luft geschüttelten Lösung, sei es von Blut selber, sei es von Blutkrystallen, den oben erwähnten photometrischen Quotienten einmal um mehr als 2.5 Procent verkleinert, so darf man getrost die ganze Lösung als zu ernstesten gasometrischen Versuchen unbrauchbar fortwerfen; denn sie enthält dann bereits verdorbenes, in Zersetzung begriffenes Material. Mit anderem aber als frischem, unzersetztem Materiale zu arbeiten, hat, wenn es sich um die Feststellung einer physiologisch so wichtigen Grösse handelt, wie es die Sauerstoffcapacität des Blutfarbstoffs ist, begreiflicher Weise gar keinen wissenschaftlichen Sinn.

Trotzdem so die Unhaltbarkeit der Bohr'schen Behauptungen von vornherein am Tage liegt, habe ich doch, um der Wichtigkeit der ganzen Frage willen, es nicht unterlassen mögen, dieselbe nochmals einer eigenen längeren Experimentaluntersuchung zu unterziehen.

Ich habe dabei zunächst gewisse optische, bezw. photometrische Constanten der in Betracht kommenden Körper (Oxyhaemoglobin, Kohlenoxydhaemoglobin, Haemoglobin) behufs ihrer Verwendung bei der quantitativen Spectralanalyse von Neuem festgestellt, alsdann aber die Sauerstoffcapacität des Haemoglobins sowohl nach dem Verdrängungsverfahren, wie auf absorptiometrischem Wege genauer zu ermitteln gesucht. Zu allen Bestimmungen wurden im Vergleich zu den früheren wesentlich vervollkommnete Apparate benutzt. Als Versuchsmaterial aber diente frisches Rinderblut oder Oxyhaemoglobinkrystalle, die aus solchem frisch dargestellt waren.

I. Photometrische Bestimmungen.

1. Photometrische Constanten des Oxyhaemoglobins.

Die Darstellungsweise des für die Feststellung der photometrischen Constanten bestimmten Blutfarbstoffs braucht kaum mehr beschrieben zu

¹ A. a. O. S. 89.

² A. a. O. S. 84.

werden. Es ist dies schon oft, zuletzt in der Carl Ludwig gewidmeten Festschrift¹ ausführlich geschehen. Nur soviel sei bemerkt, dass die unter dem Einflusse von Alkohol und einer Kältemischung gebildete Krystallmasse durch Centrifugiren jedesmal von der Flüssigkeit getrennt und mit eiskaltem Wasser ab gespült, und dass zur Herstellung der Probelösungen nur einmal umkrystallisirtes Oxyhaemoglobin verwandt wurde. Der Brei der ausgeschleuderten Krystalle ward hierzu bei Winterkälte (die Bestimmungen geschahen im Februar) auf sehr poröse Trockenteller² aufgegossen, auf welchen er in wenigen Minuten zu einem leicht ablösbaren, noch feuchten und weichen Krystallkuchen erstarrte.

Die Herstellung einer Lösung von genau bekannter Concentration geschah nach dem schon früher von meinem Schüler v. Noorden angewandten und beschriebenen³ Verfahren. Da indessen die concentrirte, mit ausgekochtem Wasser bereitete Lösung, damit man ihren Gehalt an Farbstoff erfahre, in einem kühlen Zimmer im Vacuum und unter Schwefelsäure eingetrocknet werden musste und die Besorgniss nahe lag, dass bei diesem langsam verlaufenden Processe eine chemische Umwandlung des Farbstoffs unvermeidlich sein, dass sie vielleicht gar unter gleichzeitiger Zersetzung von Wasser und unter Aufnahme von dessen Bestandtheilen erfolgen, somit das Gewicht des Trockenrückstandes zu gross ausfallen lassen werde, so wurde zur Controle in einem weiteren Versuche nicht der feste Rückstand der concentrirten Lösung, sondern direct der Trockenrückstand des feuchten Kuchens ausgemittelt, von dem ein gewogener Theil bereits zur Anfertigung der concentrirten Lösung gedient hatte. Hier war weniger Wasser mehr zu entfernen.

Zu diesem Zwecke wurde ein gleichfalls gewogener Theil des Kuchens zunächst unter Schwefelsäure und im Vacuum so weit getrocknet, dass er sich nach dem Wägen leicht pulverisiren liess, alsdann aber von diesem Pulver abermals eine gewogene Portion in eine der bekannten Trockenenten gefüllt und darin bei der Siedetemperatur des Toluols unter einem trockenen Wasserstoffstrom so lange gehalten, bis ihr Gewicht constant geworden war.

Bedeute K das Gewicht des zur Bestimmung des Trockenrückstandes

¹ *Beiträge zur Physiologie*. Carl Ludwig zu seinem 70. Geburtstage gewidmet von seinen Schülern. Leipzig 1886. S. 74.

² Solche Trockenteller werden nach dem Vorschlage meines Freundes, des Dr. med. Camerer in Urach, seit einigen Jahren sehr zweckmässig aus der nämlichen lockeren Cellulosemasse hergestellt, aus der man auch Verbandstoffe anzufertigen pflegt. Sie sind von einem etwa 1^{cm} hohen Rande umgeben, besitzen einen 1.5 bis 2^{cm} dicken Boden und saugen mit ausserordentlicher Geschwindigkeit grosse Mengen Flüssigkeit in sich ein. — Sie werden von der Verbandstoffabrik von Paul Hartmann in Heidenheim auf Wunsch in allen möglichen Grössen geliefert.

³ *Zeitschrift für physiologische Chemie*. Bd. IV. 1880. S. 9.

verwandten Kuchenstückes, K_s , das Gewicht desselben nach dem Trocknen im Vacuum und unter Schwefelsäure, K'_s , die für die Beschickung der Ente abgewogene Menge des Pulvers und K'_{ss} deren Gewicht nach dem Erhitzen im Wasserstoffstrom; wiege endlich das zur Herstellung der concentrirten Lösung verwandte Kuchenstück k und die erhaltene Lösung g Grammen, so erfährt man das Trockengewicht k_{ss} dieser Lösung aus der Gleichung:

$$k_{ss} = \frac{K_s K'_{ss} k}{K K'_s} \quad (1)$$

und ihren Procentgehalt p aus:

$$p = \frac{K_s \cdot K'_{ss}}{K K'_s} \cdot 100 \frac{k}{g} \quad (2)$$

Aus dieser concentrirten Flüssigkeit wurden erst wieder durch Zusatz von $\frac{1}{10}$ procentiger Sodalaug verdünntere Lösungen hergestellt, die für die photometrische Untersuchung geeignet waren. Ich begnügte mich im vorliegenden Falle mit zweien.

Ist die abgewogene Menge concentrirter Lösung im einzelnen Falle γ , so ist deren Trockenrückstand

$$\gamma = \frac{\gamma k}{g} \cdot \frac{K_s K'_{ss}}{K K'_s}; \quad (3)$$

und bedeutet endlich Q das Gesamtgewicht von γ + Lösungsmittel, so erhält man den Procentgehalt x der verdünnten Lösung aus:

$$x = \frac{\gamma k}{k Q} \cdot \frac{K_s \cdot K'_{ss}}{K \cdot K'_s} \quad (4)$$

Da wir aber die Concentration, c , d. h. nicht die in der Gewichtseinheit, sondern vielmehr die in der Volumeinheit der Lösung enthaltene Gewichtsmenge Substanz, wissen wollen, so ist Q durch das specifische Gewicht, s , der verdünnten Lösung zu dividiren, und wir haben dann

$$c = \frac{\gamma s k}{g Q} \cdot \frac{K_s \cdot K'_{ss}}{K \cdot K'_s} \quad (5)$$

Es ist schon in der Arbeit von v. Noorden¹ bemerkt worden, dass man den Einfluss des specifischen Gewichtes in dieser Gleichung ruhig vernachlässigen und c ohne Weiteres gleich dem Werthe von x aus Gleichung (4) setzen darf. Der Einfluss von s macht sich nämlich, da es sehr wenig grösser als 1, durch eine schwache Erhöhung der gesuchten optischen Constanten erst in der 6. Decimale bemerklich, eine Aenderung, — die gegenüber anderen, in der Natur unseres Auges begründeten und schon in der 5. Decimale hervortretenden, Schwankungen jener Werthe nicht in Betracht kommen kann.

Die für die photometrische Beobachtung ein für alle Male gewählten Spectralregionen waren:

¹ *Zeitschrift für physiologische Chemie.* Bd. IV. S. 17.

1. Die Mittelregion zwischen den beiden Absorptionsbändern des Oxyhaemoglobins, speciell das Intervall zwischen den Wellenlängen $554 \mu\mu$ und $565 \mu\mu$.

2. Die Gegend des zweiten Bandes, speciell das Intervall zwischen den Wellenlängen $531.5 \mu\mu$ und $542.5 \mu\mu$.

Als Spectrophotometer diente der vervollkommnete Apparat, den ich vor wenigen Jahren¹ beschrieben habe.

In folgender kleinen Tabelle finden sich die Resultate der gemachten Normalbestimmungen übersichtlich zusammengestellt. Es bedeutet, wie früher, c die Concentration der untersuchten Lösung, ε_0 den Extinctionscoefficienten für die Zwischenregion, ε'_0 denjenigen für das zweite Band, A_0 und A'_0 die entsprechenden „Absorptionsverhältnisse“.

Tabelle I.

Nummer der Versuchsreihe	c	ε_0	ε'_0	$\frac{\varepsilon'_0}{\varepsilon_0}$	A'_0	Bemerkungen	
I	0.0009744	0.47272	0.73970	1.565	0.001317	} Trockenbestimmung aus Lösung	
	0.0016822	0.83688	1.32864	1.588	0.001266		
	0.0010756	0.50690	0.79756	1.573	0.001348		
	0.0016820	0.77764	1.24552	1.603	0.001310		
II	0.0010180	0.50488	0.79132	1.567	0.001286		
	0.0011840	0.56506	0.89530	1.585	0.001322		
III	0.0016859	0.80070	1.25296	1.565	0.001345		} Trockenbestimmung aus Kuchen
	0.0018708	0.90812	1.43414	1.579	0.001304		

Jeder einzelne Werth von ε_0 und ebenso von ε'_0 ist aus 10 Beobachtungen abgeleitet, deren eine Hälfte im einen, deren andere im anderen Quadranten des Theilkreises angestellt wurde.

Das Mittel aus den für den Quotienten $\frac{\varepsilon'_0}{\varepsilon_0}$ gewonnenen Werthen ergibt sich = 1.578, dasjenige der A' -Werthe = 0.001312; folglich ist, da

$$\frac{\varepsilon'_0}{\varepsilon_0} = \frac{A_0}{A'_0},$$

$$A_0 = 0.001312 \cdot 1.578$$

$$= 0.002070.$$

Man sieht aus der Tabelle, dass beide Methoden, den Trockengehalt einer Haemoglobinlösung zu bestimmen, — mag man also die concentrirte Lösung direct eintrocknen oder ihren Trockenrückenstand aus dem Trockengewichte des feuchten Kuchens berechnen — zu dem gleichen Resultate

¹ Zeitschrift für physikalische Chemie. Bd. III. 1889. S. 562.

führen, — und dass, wenn der oben ausgesprochene Verdacht seine Richtigkeit hat, er sie für die zweite Methode nicht minder besitzt. Wären aber dennoch Unterschiede vorhanden, so wird deren Einfluss auf die Bestimmung der photometrischen Constanten offenbar durch denjenigen anderer, namentlich im Auge selbst liegender Bedingungen, bei Weitem überboten.

Als Beweis für das oben¹ Gesagte, wonach der Quotient $\frac{\epsilon'_0}{\epsilon_0}$ für Lösungen reiner Oxyhaemoglobinkrystalle in $\frac{1}{10}$ procentiger Sodalauge identisch ist mit demjenigen verdünnter Lösungen frischen, unzersetzten Blutes, die mit dem gleichen Lösungsmittel bereitet sind, führe ich im Folgenden mehrere Reihen von Werthen an, die zu verschiedenen Zeiten im Laufe der letzten Jahre, die vier ersten für frisches Rinderblut, die fünfte und sechste für ebensolches Kaninchenblut, festgestellt wurden. Jeder einzelne Werth gilt für eine besondere Blutprobe und jede solche Probe war einem besonderen Thiere entnommen. Die zur Berechnung der einzelnen ϵ_0 , bezw. ϵ'_0 , benutzten Drehungswinkel des Nicols sind wiederum die Mittelwerthe aus je 10 Einstellungen am Photometer.

Tabelle II.

Werthe für den Quotienten $\frac{\epsilon'_0}{\epsilon_0}$.

Bei frischem Rinderblut				Bei frischem Kaninchenblut	
1.591	1.597	1.569	1.585	1.578	1.571
1.599	1.583	1.577	1.566	1.578	1.578
1.574	1.565	1.570	1.581	1.598	1.577
1.582	1.568	1.575	1.588	1.566	1.577
1.578	1.571	1.577	—	1.587	—
1.578	1.571	1.582	—	1.583	—
1.575	1.577	1.588	—	1.568	—
1.580	1.580	1.599	—	1.577	—
1.581	1.577	1.566	—	1.585	—
1.581	1.556	1.574	—	1.579	—
Gesamtmittel = 1.581				Gesamtmittel = 1.579	

2. Photometrische Constanten des Haemoglobins.

Zur Herstellung verdünnter Lösungen des Haemoglobins habe ich mich zweierlei verschiedener Methoden bedient.

Die eine besteht darin, dass man etwa 100^{com} eines 150fach mit $\frac{1}{10}$ proc. Sodalösung verdünnten Blutes in einem kleinen Kugelapparate¹ durch einen

¹ S. 132.

² *Journal für praktische Chemie.* (II). Bd. XXII. S. 362.

etwa 1 Stunde lang hindurchgeleiteten Strom reinen Wasserstoffgases reducirt; die andere darin, dass man Blut bei Luftabschluss faulen lässt und dann in einem durch Hähne verschliessbaren Apparate,¹ gleichfalls bei Luftabschluss, in einem genau gemessenen Verhältniss mit ausgekochter Soda-lösung vom selben Titer verdünnt.

Für die photometrische Untersuchung wird ein Theil der verdünnten Lösung, mag sie auf die eine oder die andere Weise gewonnen sein, unter Anwendung bekannter Vorsichtsmaassregeln zur Abhaltung des Luftzutritts, in eine verschliessbare Absorptionszelle² übergedrängt und in solcher vor das Photometer gestellt; ein anderer Theil aber wird mit Luft geschüttelt, um später gleichfalls, aber in einer offenen Zelle, untersucht zu werden.

So findet man die bezüglichen Extinctionscoefficienten zweier gleich concentrirter Lösungen, deren eine den Blutfarbstoff als Haemoglobin, die andere als Oxyhaemoglobin enthält.

Ich gebe in Tabelle III die Werthe einiger Quotienten, deren Sinn wohl ohne Weiteres verständlich sein wird, wenn ich zuvor bemerke, dass mit ϵ_r der Extinctionscoefficient der reducirtten Lösung für das erste, mit ϵ'_r der bezügliche Coefficient für das zweite Intervall von Wellenlängen (vgl. oben S. 137) bezeichnet ist.

Tabelle III.

Nummer der Versuchsreihen	$\frac{\epsilon'_r}{\epsilon_r}$	$\frac{\epsilon_0}{\epsilon_r}$	Bemerkungen
1	0.7703	0.6876	} Durch Reduction mit Wasserstoff dargestellte Haemoglobinlösung
2	0.7610	0.6467	
3	0.7657	0.6467	
Mittel =	0.766	0.660	
4	0.7520	0.6285	} Durch Fäulniss bei Luftabschluss gewonnene Haemoglobinlösung
5	0.7630	0.6240	
6	0.7580	0.6700	
7	0.7610	0.6640	
8	0.7597	0.6590	
9	0.7552	0.6650	
Mittel =	0.759	0.652	

Hier sind die Mittelwerthe für $\frac{\epsilon'_r}{\epsilon_r}$ und $\frac{\epsilon_0}{\epsilon_r}$, wie sie sich aus den Beobachtungen ergeben, die an mit Hülfe von Wasserstoffgas dargestellten

¹ *Zeitschrift für physiologische Chemie.* Bd. III. S. 1 ff.

² *Ebenda.*

Haemoglobinlösungen gemacht wurden, bezw. 0.766 und 0.660; während die für solche Lösungen, die durch Fäulnisbakterien reducirt waren, gefundenen Quotienten die Mittelzahlen 0.759 und 0.652 liefern, also Zahlen, die mit jenen ersten sehr nahe übereinstimmen.

Berechnet man aus jedem der so erhaltenen Zahlenpaare abermals die bezüglichen Mittelwerthe und zwar unter Berücksichtigung des Gewichtes, das den einzelnen Zahlen zukommt, so erhält man

$$\text{für } \frac{\varepsilon'_r}{\varepsilon_r} \text{ den Werth } 0.7617, \text{ und}$$

$$\text{für } \frac{\varepsilon_0}{\varepsilon_r} \text{ den Werth } 0.6541.$$

Da nun $\frac{\varepsilon_0}{\varepsilon_r} = \frac{A_r}{A_0}$, somit

$$A_r = A_0 \cdot \frac{\varepsilon_0}{\varepsilon_r},$$

so findet man im vorliegenden Falle

$$\begin{aligned} A_r &= 0.00207 \cdot 0.6541 \\ &= 0.001354; \end{aligned}$$

und da ferner

$$\frac{\varepsilon'_r}{\varepsilon_r} = \frac{A_r}{A'_r},$$

so erhält man

$$\begin{aligned} A'_r &= A_r \cdot \frac{\varepsilon_r}{\varepsilon'_r} \\ &= 0.001354 \cdot \frac{1}{0.7617} \\ &= 0.001778. \end{aligned}$$

Von Wichtigkeit für Versuche mit Blut ist hier namentlich der Quotient $\frac{\varepsilon'_r}{\varepsilon_r} = 0.7617$. Niemals wird man nämlich bei Betrachtung einer Lösung reducirten Haemoglobins mit Hülfe des gewöhnlichen Spectroskops entscheiden können, ob das sog. „Reductionsspectrum“ wirklich „rein“ sei. Darüber giebt nur die photometrische Untersuchung in den bezeichneten Spectralgegenden Aufschluss. Ich möchte dies betonen gegenüber der Annahme eines besonderen „Pseudo-Haemoglobins“,¹ eines Zwischenkörpers, dessen Lösung das reine Reductionsspectrum zeigen und doch noch auspumpbaren Sauerstoff enthalten soll.²

Für meine weiter unten zu beschreibenden Versuche bedurfte ich ferner noch einer genauen Kenntniss der

¹ *Dies Archiv.* 1890. S. 385.

² A. a. O. S. 397.

3. Photometrischen Constanten des Kohlenoxydhaemoglobins.

Um sie zu erfahren, ging ich wieder von einer entsprechend verdünnten (1:150) Lösung frischen Blutes aus, die in zwei Hälften getheilt ward. Die eine Hälfte wurde tüchtig mit atmosphärischer Luft geschüttelt und enthielt somit von da ab lauter Oxyhaemoglobin; die andere Hälfte aber wurde durch Schütteln mit Kohlenoxydgas von ihrem Sauerstoffe befreit und, nachdem man letzteren aus dem geschlossenen Raume, in dem das Schütteln stattgefunden, mit Hülfe der Wasserstrahlpumpe entfernt hatte, noch mehrere Male in gleicher Weise mit überschüssigem Kohlenoxydgas behandelt. Zuletzt strömte die Lösung unter Kohlenoxydgasdruck in die verschliessbare Absorptionszelle hinüber.

Umstehende Abbildung (Fig. 1) wird das Gesagte genügend erläutern. *G* ist ein mit Kohlenoxydgas gefülltes gläsernes Gasometer. Die darin befindliche dunkle Sperrflüssigkeit ist eine mit Pyrogallussäure versetzte, etwa 20proc. Natronlauge. *k* stellt das Schüttelkölbchen, *z* die Absorptionszelle vor. Das Glasrohr *p* dient zur Herstellung der Verbindung mit dem Schlauche der Wasserstrahlpumpe. — Auf S. 150 wird noch einmal ausführlich auf die Figur Bezug genommen werden.

Folgendes sind die einzelnen Werthe, die auf solche Weise für die zur Berechnung von A_c und A'_c , d. h. zur Berechnung der für die bekannten zwei Spectralregionen geltenden Absorptionsverhältnisse des Kohlenoxydhaemoglobins nothwendigen Quotienten gefunden wurden.

Tabelle IV.

$\frac{\epsilon'_c}{\epsilon_c}$	$\frac{\epsilon'_c}{\epsilon'_0}$
1.095	1.028
1.095	1.040
1.094	1.036
1.100	1.050
1.099	1.046
1.088	1.014
1.099	1.038
1.092	1.042
1.094	—
1.093	—
1.097	—
1.090	—
1.092	—
1.093	—
1.099	—
1.096	—
1.091	—
Mittel = 1.095	Mittel = 1.037

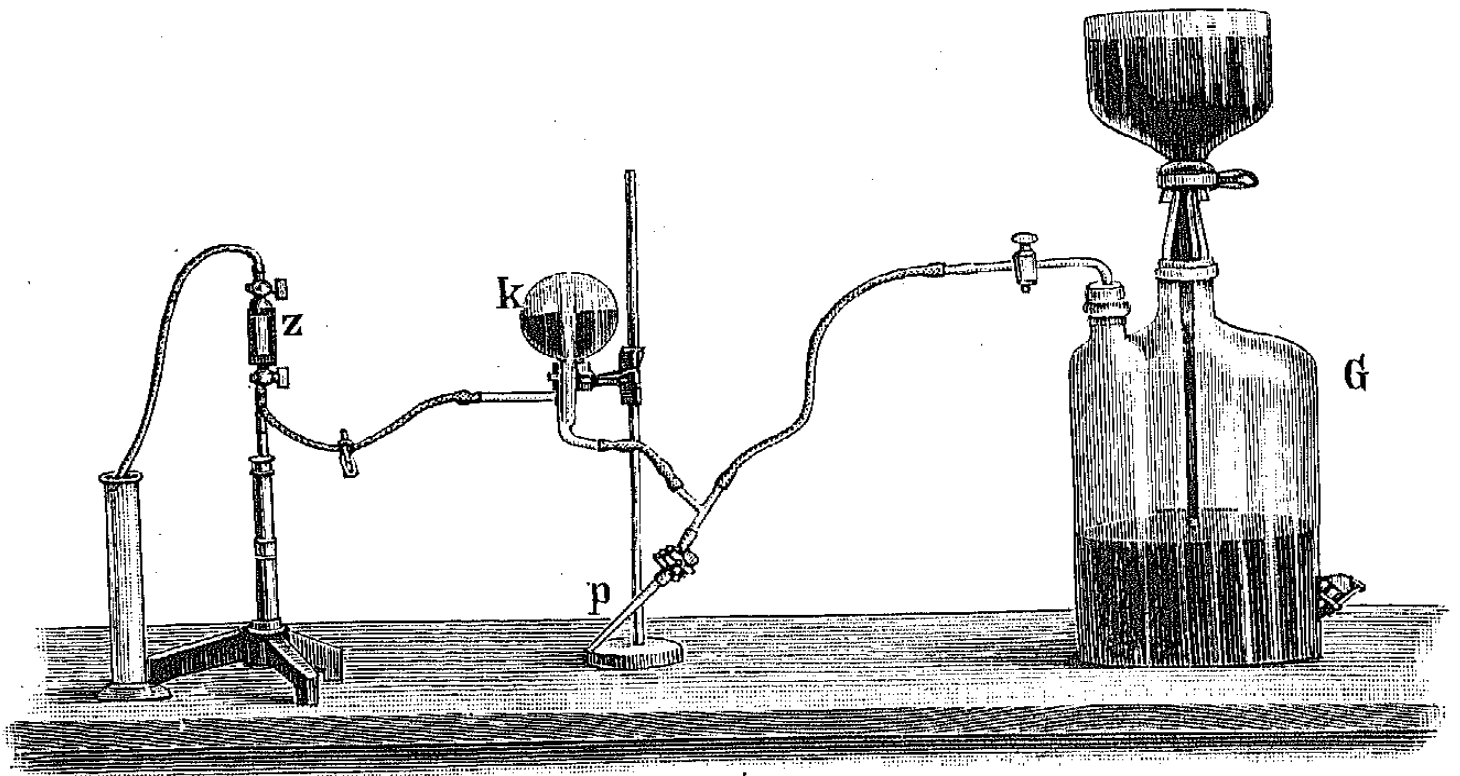


Fig. 1.

Hiernach wird, da $\frac{\varepsilon'_c}{\varepsilon'_0} = \frac{A'_0}{A'_c}$, und da nach Seite 137 $A'_0 = 0.001312$,

$$\begin{aligned} A'_c &= 0.001312 \cdot \frac{1}{1.037} \\ &= 0.001263; \end{aligned}$$

und da $\frac{A_c}{A'_c} = \frac{\varepsilon'_c}{\varepsilon_c} = 1.095$,

so wird weiter

$$\begin{aligned} A_c &= 1.095 \cdot 0.001263 \\ &= 0.001383. \end{aligned}$$

II. Versuche zur Bestimmung der Kohlenoxydgasmenge, welche von 1^{grm} Rinderhaemoglobin lose gebunden wird.

Schon in einer Arbeit des Hrn. Marshall über einen ähnlichen Gegenstand¹ wurden die Gründe auseinander gesetzt, weshalb es räthlicher erscheine, nicht die Sauerstoffcapacität, sondern vielmehr die Kohlenoxydcapacität des Haemoglobins durch Versuche direct zu bestimmen. Ich bin bei den im Folgenden zu beschreibenden Versuchen dieser Regel treu geblieben. Die Versuche selbst wurden theils nach dem Verdrängungs-, theils nach dem absorptiometrischen Verfahren ausgeführt.

¹ *Zeitschrift für physiologische Chemie.* Bd. VII. S. 81.

1. Verdrängungsversuche.

Wie in den schon früher von meinen Schülern ausgeführten Versuchen wurde auch jetzt wieder das lose gebundene Kohlenoxyd durch Schütteln der gelösten Kohlenoxydverbindung mit Stickoxydgas in einem gläsernen Kugelapparate¹ ausgetrieben, alsdann das frei gemachte Gas sammt dem Ueberschusse des angewandten Stickoxyds mittelst einer kleinen Quecksilberpumpe aus der Kugel herausgeholt und behufs Messung und Analyse in einem besonderen Absorptionsrohre aufgesammelt. Nur in der Bereitung der Lösung, ihrer Sättigung mit Kohlenoxydgas und in der Ueberfüllung derselben in den Verdrängungsapparat habe ich sowohl von vornherein, wie später bei den einzelnen Versuchen allerlei Abänderungen vorgenommen. Es geschah in der Absicht, möglichst alle Fehlerquellen kennen zu lernen; um namentlich zu erfahren, weshalb häufig so bedeutende Schwankungen des gesuchten Werthes selbst dann auftreten, wenn in einer Reihe auf einander folgender Versuche immer das gleiche Material, nur in verschiedener Menge, benutzt wird.

Die Lösungen wurden theils aus vorher dargestellten Krystallen, theils direct aus den mit Hülfe der Centrifuge isolirten Blutkörperchen bereitet.

Im ersten Falle wurde der auf die oben beschriebene Weise gewonnene, noch feuchte Kuchen frisch dargestellter Krystalle in $\frac{1}{10}$ procentiger Soda-lauge gelöst und zwar in solchem Verhältniss, dass der Gehalt der Lösung etwa 4 bis 8 Procent betrug.² Im zweiten Falle wurde mit den vom Serum getrennten Körperchen ebenso verfahren.

Es kam nun darauf an, nicht allein sämmtliches in Lösung befindliches Haemoglobin in die Kohlenoxydverbindung zu verwandeln, sondern auch die gesammte Flüssigkeit dauernd unter einer Kohlenoxydatmosphäre von bekanntem hohen Drucke zu erhalten, damit man sicher sei, dass die Lösung auch mit dem physikalisch absorbirbaren Gasantheile, dem Drucke und der Temperatur entsprechend, gleichmässig gesättigt bleibe: denn nach der Lehre von der Massenwirkung und vom chemischen Gleichgewichte hängt ja die Menge der unzersetzten dissociablen Verbindung wesentlich von der Grösse eben dieses Antheils ab.³

¹ *Zeitschrift für physiologische Chemie*. Bd. I. S. 317.

² Kennt man die Menge Blut, die zur Darstellung einer gewissen Menge von Krystallen gedient hat, so weiss man auch, wenigstens annähernd, das Volumen des Lösungsmittels, in dem man jene Krystallmenge zu lösen hat, um eine Lösung von etwa 4, 6 oder 8 Procent zu erhalten. Man geht dabei von der Annahme aus, dass defibrirtes Rinderblut durchschnittlich etwa 12 grm Haemoglobin in 100 ccm besitzt. Die genaue Bestimmung des thatsächlichen Gehaltes der Lösung geschieht später mit dem Photometer.

³ Vergl. *dies Archiv*. 1890. S. 2 ff.

Zu diesem Zwecke wurde die Lösung in einen starkwandigen Kolben (s. Fig. 2 bei *K*) von 1 Liter Inhalt gebracht, der mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstopfen verschlossen und zuletzt in umgekehrter Stellung an einem eisernen Stative aufgehängt ward. Durch die eine Bohrung des Stopfens war ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr geführt, dessen senkrechter Schenkel bis nahe auf den Boden des Kolbens reichte. Dort war das Rohr wieder um und ein wenig nach aufwärts gebogen und mündete mit einer kleinen trichterförmigen Erweiterung, um etwaige Tropfenspannungen zu verhindern. Am verticalen Theile des Rohres war ein kurzes, nur von 5 bis 30° reichendes Thermometer mittelst zweier Kautschukbänder derartig befestigt, dass es bei umgekehrter Stellung des Kolbens aufrecht stand. Der ausserhalb des Kolbens befindliche horizontale Röhrentheil bildete ein T-stück. Mit Hülfe desselben konnte das Kolbeninnere gleichzeitig mit der Wasserstrahlpumpe bei *p*, und mit einem zweiten verzweigten Röhrensysteme, *r, r*, in Verbindung gesetzt werden. Das letztere diente dazu, 1. die Füllung des Kolbens mit Gas und 2. die Messung des im ganzen Systeme herrschenden Druckes zu ermöglichen. Es war desshalb am einen Ende mit einem gläsernen Gasometer (*G*), an zwei anderen Stellen mittelst Zweigröhren mit zwei verschiedenen Manometern verbunden, deren eines (*M*) einen Ueberdruck des Gases über den Atmosphäerendruck, während das andere (*N*) einen etwa im Inneren des Kolbens erzeugten negativen Druck zu messen erlaubte.

Durch die zweite Bohrung des Stopfens war ein rechtwinklig umgebogenes Glasrohr geführt, dessen senkrechter Theil unmittelbar über dem Stopfen (der Kolben, wie aus der Zeichnung ersichtlich, immer umgekehrt aufgehängt gedacht) mündete, während das horizontale Stück am Ende ein Kautschukrohr trug, mittelst dessen es mit dem Verdrängungsapparate, *A*, communiciren konnte.

Alle aus Kautschuk bestehenden Verbindungsstücke waren möglichst dickwandig genommen; eine während der Versuchszeit von ungefähr 10 bis 15 Minuten etwa vorkommende und irgendwie merkliche Diffusion von atmosphärischer Luft oder von Kohlenoxydgas war also selbst da ausgeschlossen, wo um der Beschaffung grösserer Beweglichkeit willen längere Kautschukröhren (bis zu 30^{cm} Länge) hatten gewählt werden müssen. Wo aber die Schläuche über die Enden von Glasröhren gezogen waren, hatte man sie in der bekannten Weise durch mehrfache straffe Umwicklung mit weichem Eisendraht fest auf die Glaswand aufgepresst. Der den Kolben verschliessende Stopfen war gleichfalls noch durch starke Schnüre von Bindfaden am Kolbenhalse befestigt und alle etwaigen Fugen waren mit Klebwachs ausgegossen. Die Absperrung einzelner Theile des Systems geschah durch entsprechend angebrachte, aus Nickel gefertigte, Schraubenklemmen.

War nun der etwas mehr als bis zur Hälfte gefüllte Literkolben, bei geschlossener Klemme *c*, in der beschriebenen Weise aufgehängt, so wurde er zunächst mit dem Gasometer und den beiden Manometern verbunden, während der Verdrängungsapparat selber vorerst noch ganz aus dem Spiele blieb. Alsdann setzte man den Luftraum des Kolbens mittelst des Schlauches *p* mit einer Wasserstrahlpumpe in Verbindung und während die Klemmen *a*, *b*, *d*, *e* geöffnet, *c* und *f*, desgleichen der Hahn *g* aber geschlossen blieben, pumpte man jenen Raum unter öfterem Umschütteln so weit aus, bis das Manometer *N* nur noch einen Druck anzeigte, dem etwa die im Kolben herrschende Dampftension gleichkommen mochte. Hierauf wurde die Klemme *a* wieder geschlossen und nach Oeffnung von *f*, *h* und *g* ein Strom von Kohlenoxydgas¹ aus dem Gasometer in den Kolben hinein gelassen. Nun ward der Kolben aus seinem Halter gelöst und einige Minuten recht tüchtig geschüttelt, so lange, bis man annehmen durfte, das Kohlenoxyd habe den Sauerstoff aus seiner Verbindung mit dem Haemoglobin mindestens bis auf Spuren ausgetrieben. Hatte man das Auspumpen des Kolbens sowie das Einlassen von frischem Kohlenoxydgas und das Schütteln der Flüssigkeit mit demselben noch zwei Male wiederholt, so wurde endlich zur Beobachtung einer Reihe für die spätere Rechnung nothwendiger Daten geschritten.

Es mussten beobachtet werden:

1. die Temperatur der Lösung im Innern des Kolbens *t*,
2. die Höhe der Quecksilbersäule im Barometer . . . *b' τ*,
3. die Temperatur am Barometer *τ*,
4. die Differenz der Quecksilbersäulen im Manometer *M* *m_g*,
5. die Temperatur am Manometer *M* *θ*.

Diese Daten waren zur Berechnung des Druckes nöthig, unter welchem die Lösung mit Kohlenoxydgas gesättigt worden, und weiter zur Berechnung der Kohlenoxydgasmenge, welche bei jenem Drucke in der Volumeneinheit der Flüssigkeit physikalisch absorhirt enthalten war.

In diese Rechnung gehen aber ausser jenen direct beobachteten Daten noch zwei Grössen ein, die vorerst nur hypothetische Werthe haben können: es sind dies 1. die Tension des Dampfes über der Lösung, und 2. der Absorptionscoefficient des Kohlenoxydgases für die Lösung.

¹ Einen genügenden Vorrath von Kohlenoxyd bereitete ich mir aus Oxalsäure mit concentrirter Schwefelsäure. Um es rein zu erhalten, liess ich das unmittelbar gewonnene Gasgemenge zuerst durch eine mit concentrirter Kalilauge beschiokte Drechsel'sche Waschflasche gehen, alsdann aber in das gläserne Gasometer eintreten, das wiederum völlig mit concentrirter Kalilauge angefüllt war. Diese Kalilauge hatte man vorher längere Zeit im Sieden erhalten und nach dem Erkalten mit einer gleichfalls heiss bereiteten wässerigen Lösung von Pyrogallussäure versetzt.

Zur Tensionsfrage ist Folgendes zu bemerken: Ist die Versuchsflüssigkeit eine Lösung ausgeschleuderter Blutkörperchen in $\frac{1}{10}$ procentiger Sodalauge, so darf man die Tension derselben unbedenklich gleich derjenigen des Wassers setzen; denn nach dem Gesetze der „molekularen Dampfdruckverminderung“¹ vermag ein Grammmolekül Stoff, aufgelöst in 100 Grammen Wasser, den Dampfdruck des letzteren um 0.18 mm Quecksilber zu erniedrigen. Nun enthält aber eine $\frac{1}{10}$ procentige Lösung wasserfreien kohlensauren Natriums nur den tausendsten Theil vom Molekulargewichte desselben; ihr Dampfdruck wird also auch nur um 0.00018 mm vermindert sein. Enthält diese Lauge ausserdem auch noch 8 Procent Haemoglobin, so beträgt bei der Grösse von dessen Molekulargewicht (es sei rund 16000) die Menge des Gelösten gar nur $\frac{1}{2000}$ eines Grammmoleküls und wird also abermals auf die messbare Höhe des Dampfdrucks ohne Einfluss sein. Ebenso verhält es sich aber mit den geringen Spuren anderer Substanzen, welche bei Einwirkung unserer verdünnten Lauge auf die isolirten Blutkörperchen mit in Lösung gehen.

Anders steht die Sache bei Lösungen von Blutkrystallen, da diesen letzteren, der Art ihrer Darstellung nach, noch immer zwar kleine, aber doch merkliche Mengen Alkohols anhaften. Hier wird durch den Alkohol die Dampfspannung der Lösung in der That erhöht, wenn gleich, bei der niedrigen Versuchstemperatur (stets unter 20.0°) und bei dem ja doch immer geringen Procentgehalte der Lösung an diesem Körper, selbst im schlimmsten Falle schwerlich um mehr als 10 mm .²

Es ist zwar von vornherein ersichtlich, dass der Einfluss einer um 10 mm fehlerhaften Druckbestimmung auf die Berechnung der absorbirten Gasmenge bei einem wirklichen Drucke von etwa 740 mm nicht gerade gross ausfallen kann. Immerhin möge hier um des Folgenden willen einmal ein einfaches Beispiel ausführlich durchgerechnet werden:

Es betrage das Volumen der zu einem Verdrängungsversuche verwandten Lösung 150 ccm , die Temperatur derselben sei 10° und der bei dieser Temperatur gültige Absorptionscoefficient des Kohlenoxydgases für die

¹ Vgl. Windisch, *Die Bestimmung des Molekulargewichts*. Berlin 1892. S. 430.

² Nach Wüllner (*Lehrbuch der Physik*. II. Aufl. Leipzig 1871. Bd. III. S. 569) ist die Dampfspannung eines Gemisches aus 1 Gewichtstheil Wasser und $\frac{1}{2}$ Gewichtstheil Alkohol bei 11.8° gleich 21 mm und bei 20.5° gleich 35.41 mm , während die Dampfspannung des reinen Wassers bei den gleichen Temperaturen 10.32 , bzw. 17.93 mm beträgt. — Die Resultate, die Konowalow (*Wiedemann's Annalen*. Bd. XIV. S. 34 und 219. 1881) in Betreff der gleichen Frage bei Versuchen mit einer Mischung aus 33.13 Procent Alkohol und 66.87 Procent Wasser erhielt, sind leider hier nicht zu verwerthen, da seine niedrigste Versuchstemperatur dabei bereits 20° überstieg.

Lösung 0.02700. Dann ist die physikalisch absorbirte Gasmenge bei einem Drucke von 740^{mm}

$$\frac{150 \cdot 0.027 \cdot 740}{760} = 3.943 \text{ ccm},$$

und bei einem Drucke von 730^{mm}

$$\frac{150 \cdot 0.027 \cdot 730}{760} = 3.89 \text{ ccm}.$$

Der Unterschied macht also 1.014 Procent aus.

Wenn nun ferner die Gesamtmenge des im angenommenen Verdrängungsversuche gefundenen Kohlenoxydgases 19.98^{ccm} beträgt und die vorhandene Haemoglobinmenge gemäss der photometrischen Bestimmung 12.0^{grm}, so findet man die von 1^{grm} lose gebundene Gasmenge x , wenn der Druck von 740^{mm} gilt, $= \frac{19.98 - 3.94}{12.0} = 1.337$, im anderen Falle aber, wenn der Druck = 730, $= \frac{19.98 - 3.89}{12.0} + 1.340$ ccm; also nur um 0.22 Procent grösser als im ersten Falle.

Zur Frage des Absorptionscoefficienten. — Es ist eine nicht unzulässige, im Gegentheile sehr wahrscheinliche Annahme, dass in dem Maasse, wie die Theilchen eines bereits gelösten Stoffes innerhalb des Lösungsmittels Raum für sich in Anspruch nehmen, die Aufnahme indifferentere Gase durch das gleiche Lösungsmittel beschränkt sein wird.¹ So stellten Mackenzie² und Setschenow³ fest, dass die Absorptionscoefficienten der Kohlensäure für Salzlösungen bei gleicher Temperatur kleiner sind als für Wasser; und Bohr⁴ fand den Absorptionscoefficienten des Sauerstoffs für eine zweiprocentige wässrige Haemoglobinlösung bei 15° gleich 0.02249, während derselbe für reines Wasser nach L. W. Winkler⁵ bei der gleichen Temperatur = 0.03415, also um 50 Procent grösser ist. — So geht auch aus meinen eigenen, weiter unten anzuführenden, Absorptionsversuchen⁶ hervor, dass eine wässrige Lösung von Rinderblutkörperchen, die etwa 4 Procent Haemoglobin und $\frac{1}{10}$ Proc. Soda enthält, physikalisch merklich weniger Kohlenoxyd absorbirt, als reines Wasser von gleicher Temperatur.

Bei Mischungen von Wasser und Alkohol aber hängt es nach

¹ Vergl. meine Bemerkung in *Zeitschrift für physikalische Chemie*. Bd. XI. 1893. S. 794.

² Wiedemann's *Annalen*. Bd. I. 1876. S. 438.

³ *Zeitschrift für physikalische Chemie*. Bd. IV. 1889. S. 117.

⁴ *Experimentelle Untersuchungen über die Sauerstoffaufnahme des Blutfarbstoffes*. Kopenhagen 1885. S. 37.

⁵ *Zeitschrift für physikalische Chemie*. Bd. IX. 1892. S. 171.

⁶ Vergl. S. 171.

O. Müller¹ und nach O. Lubarsch² ganz von der Grösse des jeweiligen Alkoholgehaltes ab, ob der Absorptionscoefficient des aufzunehmenden Gases, sei dieses Kohlensäure oder Wasserstoff, Sauerstoff oder Kohlenoxydgas, für die Mischung grösser oder kleiner als der für reines Wasser ist. Erst wenn der Alkoholgehalt, von unten aufsteigend, 50 Gewichtsprocente erreicht hat, absorbirt die Mischung eine grössere Gasmenge als reines Wasser.

Wie sich nun die schwach alkalische Lösung von krystallinischem Haemoglobin bei gleichzeitiger Gegenwart von Alkohol in dieser Beziehung verhalten wird, lässt sich von vornherein ebensowenig sagen, wie direct bestimmen; doch ist es nicht unwahrscheinlich, dass der Einfluss des Alkohols auf die Vergrösserung des Coefficienten auch in diesem Falle erst bei stärkerem Gehalte daran beginnen wird.

In welchem Maasse eine Aenderung des Absorptionscoefficienten auf die von uns gesuchte Grösse von Einfluss sein kann, möge abermals ein einfaches Rechnungsbeispiel zeigen:

Betrage das Volumen der Lösung wiederum 150^{ccm}, die Temperatur 10^o und die vorhandene Haemoglobinmenge 12 Grammen; auch sei der Druck = 730^{mm}. Der Absorptionscoefficient aber sei nicht 0.027, sondern 0.04, also um beinahe 50 Procent grösser. Dann wird die absorbirte Gasmenge

$$= \frac{150 \cdot 0.04 \cdot 73}{76} = 5.76 \text{ ccm.}$$

Ist nun die Gesamtmenge des beim Verdrängungsversuche gefundenen Gases auch wieder, wie oben, 19.98^{ccm}, so wird die von 1^{grm} Haemoglobin lose gebundene Kohlenoxydgasmenge

$$x = \frac{19.98 - 5.76}{12.0} = 1.185 \text{ statt } 1.34 \text{ ccm, also um 13 Procent zu klein.}$$

Bei der Berechnung der Resultate, welche die nun folgenden Versuche ergaben, wurde, in Ermangelung und wegen Unkenntniss des richtigen, vorläufig immer noch angenommen, dass der für reines Wasser gefundene Absorptionscoefficient auch für die benutzten Lösungen Gültigkeit habe; indessen stets mit dem aus dem Vorhergehenden sich ergebenden Vorbehalt.

War die Lösung endlich hinreichend für die Untersuchung vorbereitet, so wurde eine abgemessene Portion davon in den Verdrängungsapparat *A* übergefüllt. Dieser letztere ist schon einige Male beschrieben worden. Er besteht aus zwei, je mit zwei Hähnen versehenen, starkwandigen Glas- kugeln, die sich mittelst in einander geschliffener Röhrenfortsätze vereinigen lassen. Beide Kugeln sind ungleich gross. Die eine, auf Fig. 2 die obere, fasst 136.26^{ccm}, die andere etwa 190^{ccm}. Die kleinere dient

¹ Wiedemann's *Annalen*. Bd. 37. 1889. S. 24.

² *Ebenda*. Bd. 37. 1889. S. 524.

³ *Zeitschrift für physiologische Chemie*. Bd. I. 1877. S. 317 und *Journal für praktische Chemie*. (II.) Bd. XXII. 1880. S. 362.

zur Abmessung eines bestimmten Volumens der Lösung; in der grösseren kann dieses Volumen bequem mit einer ausreichenden Menge Stickoxydgas geschüttelt werden.

Wie sich aus beistehender Fig. 2 ergibt, wird der Apparat zum Zwecke der Füllung aufrecht in eine Quecksilberwanne gestellt, doch so, dass er durch eine starke hölzerne Bank (*B*), die mit einem passenden Ausschnitte versehen ist, getragen wird. Ich unterlasse es, ausführlich die Art und Weise zu beschreiben, wie der Apparat zuerst ganz mit Quecksilber gefüllt und hernach unter Ausschluss aller Luftbläschen mit dem Kolben *K* in Verbindung gesetzt wird. Ich bemerke nur, dass man im Stande ist, nach Oeffnung einzelner Klemmen und Hähne, namentlich durch vorsichtige Handhabung der letzteren, während das Quecksilber langsam nach abwärts und Kohlenoxydgas aus dem Gasometer *G* nach dem Kolben *K* hinüberfließt, genau nur die obere Kugel sammt den beiden Hahnbohrungen und keinen Raum weiter mit der Lösung zu füllen. Ist diese Füllung beendet und sind alle Klemmen wieder geschlossen, so schliesst man auch die Hähne der beiden Kugeln und kehrt, nach Lösung seiner Verbindung mit dem Kolben, den ganzen Apparat um, derart, dass jetzt die grössere Kugel zu oberst zu stehen kommt. Dann öffnet man die beiden mittleren Hähne wieder und lässt die gesammte Lösung aus der kleineren Kugel gegen ebensoviel Quecksilber, das nach unten fließt, hinauf in die grössere Kugel treten. Ist auch dies geschehen, so schliesst man die Hähne von Neuem und trennt beide Kugeln von einander. Die kleinere Kugel wird nun geleert; in die grössere aber, die jetzt Lösung und Quecksilber zugleich enthält, wird, während das Ende ihres Fortsatzes unter Quecksilber mündet, aus einem Quecksilbergasometer von unten ein Strom reinen Stickoxydgases eingeleitet, das nach Emich's¹ Vorschrift aus Natriumnitrit mit conc. Schwefelsäure, bei Gegenwart von metallischem Quecksilber, bereitet ist, — so lange, bis nahezu alles Quecksilber aus der Kugel verdrängt und durch das Gas ersetzt ist. Alsdann wird der Hahn geschlossen, die Kugel aus der Quecksilberwanne entfernt und wiederholt mehrere Minuten lang tüchtig geschüttelt. Am Ende wird die Kugel durch ein angeschliffenes Verbindungsrohr mit der Sprengel'schen Quecksilberpumpe verbunden und ihr gasiger Inhalt in ein besonders geformtes Absorptionsrohr² hinübergepumpt.

Die Trennung des überschüssigen Stickoxyds vom Kohlenoxyd geschieht nach einem früher³ erprobten Verfahren, die Bestimmung des Kohlenoxyds aber nach der Verpuffung mit Sauerstoff als Kohlensäure.

¹ *Wiener Sitzungsberichte*. Math.-naturw. Klasse. Bd. CI. Abth. IIb. 1892. S. 88.

² *Zeitschrift für physiologische Chemie*. Bd. VII. S. 81 ff.

³ *Ebenda*.

Noch während die Gasanalyse im Gange ist, vollführt man die genaue photometrische Bestimmung des Haemoglobingehaltes der Lösung. Man lässt zu diesem Zwecke etwa 20^{ccm} der Lösung aus dem Kolben in eine fein getheilte, mit Erdmann'schem Schwimmer versehene Bürette einfließen, misst etwa 2^{ccm} genau ab und verdünnt dieselben durch Zusatz $\frac{1}{10}$ procent. Sodalösung aus einer zweiten Bürette bis auf 80 oder 100^{ccm}, oder noch weiter. Diese verdünnte Lösung saugt man dann, da sie während der Bereitung mehrfach der atmosphärischen Luft ausgesetzt gewesen, in ein

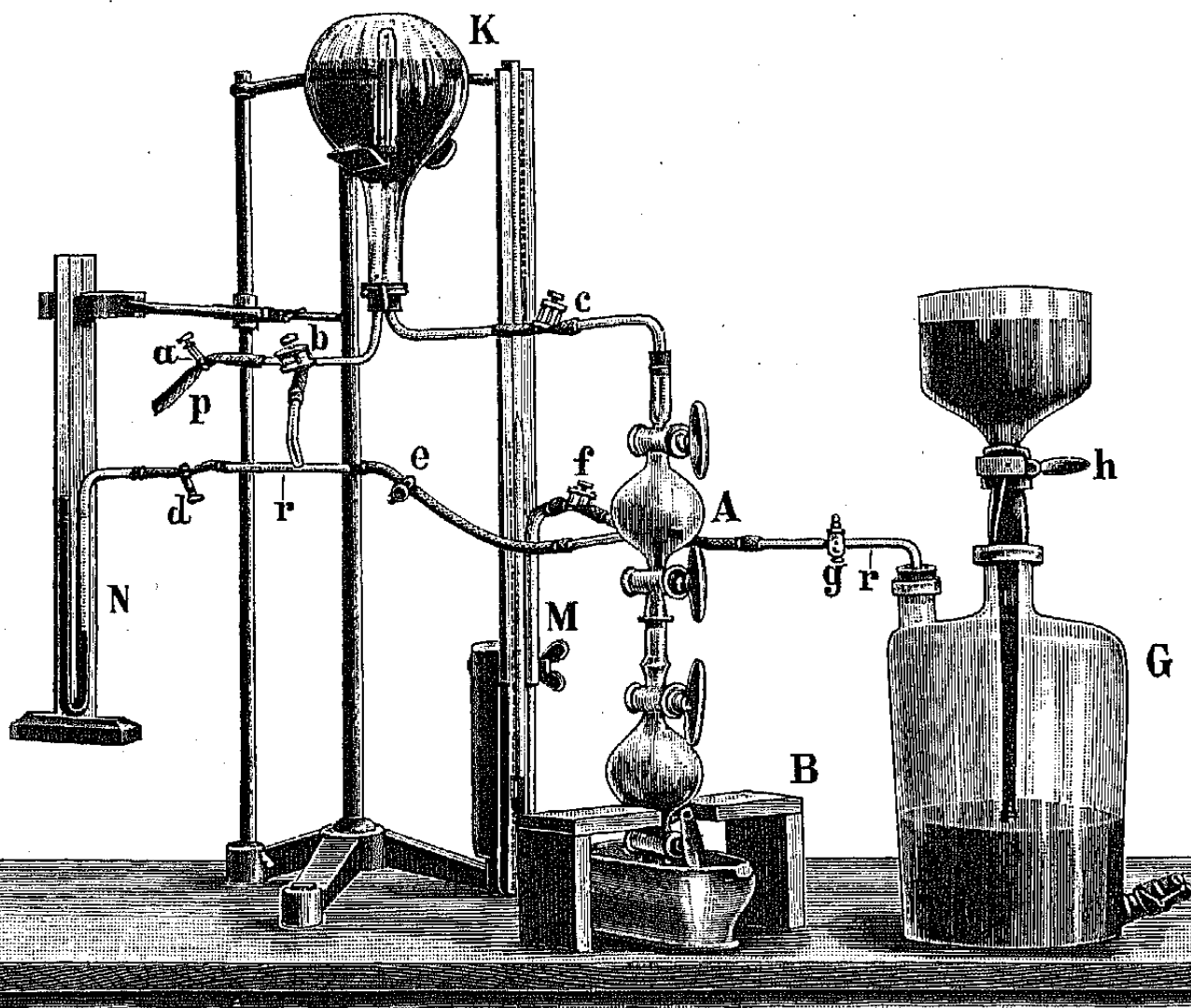


Fig. 2.

Kölbchen von etwa 150 bis 200^{ccm} Inhalt ein, das nach Art einer Spritzflasche mit zwei Glasröhren versehen ist. (Siehe Fig. 1, *k*.) Die kürzere von diesen ist seitlich direct an den Hals des Kölbchens angelöthet, die längere aber, die hinab bis nahe auf den Boden reicht, ist, zur Vermeidung des Kautschukstopfens, durch die oben zugeschmolzene Mündung des Halses eingeführt und mit diesem verschmolzen; ausserhalb des Kölbchens ist sie im rechten Winkel umgebogen. Das an den Hals angelöthete kürzere Rohr verbindet man mittelst eines sorgfältig gereinigten Kautschuk-schlauches mit einer verschliessbaren Absorptionszelle, das andere aber mit

dem einen Ende eines gläsernen T-stücks, dessen beide andere Enden, das eine mit einer Wasserstrahlpumpe, das zweite mit dem Kohlenoxydgasometer, in Verbindung stehen.

Sowohl das zur Zelle, wie das zur Pumpe führende Kautschukrohr sind mit Klemmen versehen. Sind dieselben geschlossen, so wird das Kölbchen in umgekehrter Lage an einem Stative befestigt. Die ganze Vorrichtung hat den Zweck, die Lösung nach vorherigem Auspumpen der über ihr befindlichen atmosphärischen Luft unter eine Atmosphäre von Kohlenoxydgas zu bringen, sie durch Schütteln mit diesem Gase zu sättigen und, unter Nachdringen desselben aus dem Gasometer, in die Absorptionszelle hinüberzudrängen, die sogleich nachher vor dem Spectrophotometer aufgestellt werden muss. Damit der Flüssigkeitsstrom durch die Zelle einige Secunden andauern könne, ist an den oberen Fortsatz derselben ein dünnes Kautschukrohr befestigt, durch das sich die oben austretende Flüssigkeit in ein untergesetztes Gefäss ableiten lässt, ohne etwa die Gläser der Zelle äusserlich zu benetzen.

Bezeichnet n den Grad der Verdünnung, welche die ursprüngliche Lösung zum Zwecke der photometrischen Untersuchung erleiden musste, so erfährt man nach Feststellung des Exstinctionscoefficienten die Menge des Kohlenoxydhaemoglobins, h_c , die in dem zu einem Verdrängungsversuche angewandten Volumen U der Lösung enthalten ist, aus der Gleichung:

$$h_c = n U \varepsilon_c A_c,$$

oder, wenn die andere Spectralregion gewählt ist,

$$h_c = n U \varepsilon'_c A'_c.$$

Am sichersten ist es, h_c nach beiden Gleichungen zu bestimmen und aus den so erhaltenen Werthen das Mittel zu nehmen.

Ich gebe nun zunächst das Beispiel eines einzelnen, an einer Lösung frisch dargestellter Rinderblutkrystalle ausgeführten Verdrängungsversuches ausführlich.

A. Vorbereitende Operationen.

Der feuchte Krystallkuchen wird in 750^{ccm} verdünnter Sodalaugelöst, in den grossen Kolben gebracht und drei Mal hintereinander erst ausgepumpt und wieder mit Kohlenoxydgas geschüttelt. Alsdann wird die kleinere Kugel des Verdrängungsapparates mit der Lösung gefüllt.

1. Beobachtungsdaten und weitere Rechnungselemente.

Temperatur der Lösung	$t = 17.4^{\circ}$
Barometerstand	$b'_z = 740.2 \text{ mm}$

Temperatur am Barometer	$\tau = 11.0^{\circ}$
Am Manometer M abgelesener Druck	$m_{\vartheta} = 34.0 \text{ mm}$
Temperatur am Manometer M	$\vartheta = 17.0^{\circ}$
Volumen der in den Verdrängungs- apparat aufgenommenen Lösung	$U = 136.26 \text{ ccm}$
Tension des Wasserdampfes bei 17.4°	$b'' = 14.79 \text{ mm}$

2. Reducirte und berechnete Werthe.

Auf 0° reducirtes Barometerstand	$b'_0 = 738.8 \text{ mm}$
„ „ „ Manometerstand	$m_0 = 33.9 \text{ „}$
Druck des trockenen Gases ($b'_0 + m_0 - b''$)	$p = 757.9 \text{ „}$
Absorptionscoefficient des Kohlenoxyds für Wasser von 17.4° (interpolirt nach Winkler)	$\alpha_t = 0.02436$
Das von U absorbirte Kohlenoxydvolumen	$v = 3.31 \text{ ccm.}$

B. Analyse des bei Ausführung des Verdrängungsversuches
gewonnenen Gases.

Sämmtliches nach Zusatz von überschüssigem Sauerstoff und nach Beseitigung der Oxydationsproducte des Stickoxyds mit Kalilauge im Absorptionsrohre verbliebene Gas wird in das Eudiometer übergefüllt und durch den Funken entzündet.

	Vol.	Druck	Temp.	Vol. bei 0° und 760 mm Druck
Nach Explosion	229.74	363.2	11.60°	105.32
Nach Absorption der CO_2	115.00	261.4	11.75°	37.92

Die Differenz $105.32 - 37.92 = 67.4$ entspricht nach der Calibrirtabelle des Eudiometers 16.89 ccm. Diese Summe sei mit V bezeichnet.

C. Photometrische Bestimmung des Haemoglobingehaltes.

Beobachtete und berechnete Werthe.

Verdünnung (2 ccm ursprünglicher Lösung bis 142 ccm)	$n = 71.0$
Extinctionscoefficient in Spectralregion 1	$\epsilon_c = 0.65964$
„ „ „ 2	$\epsilon'_c = 0.71880$
Vorhandene Haemoglobinmenge:	
nach $U \epsilon_c A_c n = 8.832$ } im Mittel	$h_c = 8.811 \text{ grm}$
„ $U \epsilon'_c A'_c n = 8.790$ }	

D. Schlussrechnung.

Auf 1 ^{grm} Haemoglobin kommen

$$x = \frac{V-v}{h_c} = \frac{16.89 - 3.31}{8.81} = 1.54 \text{ ccm.}$$

In der That zeigte sich zwischen den Ergebnissen einer Anzahl ähnlicher, gleichfalls an Lösungen von Haemoglobinkrystallen ausgeführter Versuche Anfangs eine ziemliche Uebereinstimmung. So erhielt ich z. B. für x noch folgende weitere Werthe: 1.53; 1.55; 1.51. Zu diesen habe ich zu bemerken, dass sowohl die Werthe 1.54 (aus obigem Beispiel) und 1.53, wie 1.55 und 1.51 insofern zu einander gehören, als die Versuche, aus denen sie sich ergaben, jedes Mal mit der gleichen Lösung, aber unter Anwendung zweier verschieden grosser Flüssigkeitsvolumina (es waren meist zwei Verdrängungsapparate zugleich im Gebrauche) ausgeführt wurden. Später kamen aber auch ganz abweichende Werthe vor: so 1.43 und 1.21; 2.10 und 1.95; 1.50 und 2.00; 1.55 und 1.63; 1.67 und 1.41. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass unter den Ursachen dieser erstaunlichen Abweichungen nicht in letzter Linie die Ungewissheit über die jeweilige Grösse der als einfach absorbiert anzusehenden Gasmenge zu nennen ist: man vergleiche z. B. das oben, S. 148, durchgeführte Zahlenbeispiel. Betrachtet man aber die ebenso erstaunlichen Abweichungen zweier zusammengehöriger Werthe, die bei zwei gleichzeitig mit der gleichen und unter gleichen Bedingungen gehaltenen Lösung, nur unter Verwendung ungleich grosser Portionen derselben, angestellten Versuchen gefunden wurden, so versagt diese Erklärung, und es steigt der Verdacht auf, es möchten vielleicht bedeutende analytische Fehler vorgekommen sein. In der That liegt die Besorgniss nahe, dass während der Auspumpung der alkoholhaltigen Lösung auch wechselnde Mengen von Alkoholdämpfen zuerst in das Absorptionsrohr und von da weiter in's Eudiometer gelangt und dass sie, nachdem sie hier die Tension verändert, schliesslich bei der Verpuffung auch theilweise mit verbrannt seien.

Entschieden ausgeschlossen als Erklärungsgrund bleibt aber die Annahme, dass in den verschiedenen Proben etwa verschiedene Haemoglobine eine Rolle gespielt hätten; denn ich verwandte ja zu je einem Versuchspare immer nur ungleich grosse Portionen der gleichen Lösung.

Um alle die uncontrolirbaren Fehler fern zu halten, die von dem den Krystallen anhaftenden Alkohole herrühren mochten, benutzte ich nunmehr die schwach alkalischen Lösungen der ausgeschleuderten Blutkörperchen selber, verfuhr aber mit ihnen in derselben Weise, wie mit den Lösungen der Krystalle.

In Betreff der Tension galt hier das oben (S. 146) Gesagte; d. h. man durfte dieselbe unbedenklich derjenigen des reinen Wassers gleichsetzen. Hinsichtlich des Absorptionscoefficienten aber war mit ziemlicher Sicherheit zu erwarten, dass derselbe für Lösungen von Blutkörperchen kleiner sein werde als für Wasser. Nichtsdestoweniger wurde bei der Berechnung der Versuchsergebnisse derjenige für Wasser, als allein mit Sicherheit bekannt, zu Grunde gelegt. Es war demnach zu erwarten, dass die nunmehr gewonnenen Werthe für α kleiner als früher, jedenfalls aber (wegen der Annahme eines zu grossen Absorptionscoefficienten) auch kleiner als der wirkliche Werth ausfallen würden.

Diese Vermuthung wurde in der That bestätigt; ich erhielt in drei Versuchen, einem einfachen und einem Doppelversuche, die ich alle mit der gleichen, 7.3procentigen, Lösung anstellte, die Werthe 1.26; 1.30 und 1.27.

Wenn nun wirklich der anhaftende Alkohol die wesentlichste Ursache aller früheren Fehler war, so mussten alkoholfreie Krystalllösungen sich ebenso wie die Lösungen der Körperchen verhalten: d. h. die mit ihnen angestellten Versuche mussten α -Werthe von der gleichen Grössenordnung wie die eben genannten liefern.

Möglichst alkoholfreie Lösungen der Krystalle stellte ich mir nun dadurch her, dass ich den frischen Krystallkuchen in lauwarmem, vorher ausgekochtem, Wasser löste, alsdann nach Kühne's Art in einen aus vegetabilischem Pergament gefertigten Schlauch einfüllte und mehrere Tage bei sehr niedriger Temperatur (bei 2 bis 3° im Januar) der Dialyse gegen fliessendes Wasser unterwarf. Der prall gefüllte, mit etwa 600^{cm} der Lösung beschickte, Schlauch ward dazu in einen 8^{cm} weiten Glaszylinder eingesenkt, in dem ein continuirlicher Strom erst gewöhnlichen Wassers aus der Leitung des Institutes, später destillirten Wassers, von unten nach oben floss. Die Dialyse dauerte so lange, bis einige Cubikcentimeter des Aussenwassers, nachdem dasselbe eine Nacht hindurch ruhig neben dem Schlauche gestanden, nicht mehr die Jodoformreaction gaben.

Bis diese ausblieb, bedurfte es nicht weniger als 5 bis 6 Tage. Als dann wurde die Lösung, die noch das reine Spectrum des Oxyhaemoglobins zeigte, in den bekannten Kolben gefüllt, in angegebenem Maasse durch Sodazusatz alkalisch gemacht und wie oben behandelt und angewandt.

Nun erhielt ich in zwei Versuchen für α die Werthe 1.27 und 1.25; also in der That Werthe von derselben Grössenordnung, wie bei der Lösung der Körperchen.

Nach allem Bisherigen durfte ich zunächst nur so viel annehmen, dass der wahre Werth von α nicht über 1.50, aber auch nicht unter 1.30 liegen werde.

Um ihn möglichst genau zu ermitteln, entschloss ich mich, die Verdrängungsmethode ganz zu verlassen und zur absorptiometrischen zurückzukehren; wenn gleich deren Anwendung gegenüber so dissociablen Stoffen, wie die Verbindungen des Haemoglobins es sind, freilich wieder neuen Bedenken unterliegt. Es bewog mich dazu aber vor Allem die Unsicherheit über den wirklichen Absorptionscoefficienten des Kohlenoxyds für die anzuwendenden Lösungen.

Ferner wurde nunmehr, um alle Complicationen zu vermeiden, auf die Anwendung gelöster Krystalle, die unter Beihülfe von Alkohol gewonnen waren, ein für alle Mal verzichtet und nur mit den Lösungen von Blutkörperchen direct gearbeitet.

2. Absorptiometrische Versuche.

a) Reduction des Oxyhaemoglobins.

Die schwierigste Aufgabe, die bei absorptiometrischen Versuchen mit Blutfarbstoff zu erfüllen ist, bleibt noch immer die, eine genügend grosse Menge seiner concentrirten Lösung, etwa 400 bis 500 ^{cem} davon, auf einmal, ohne dass der Farbstoff theilweise eine unliebsame Veränderung erleidet, zu entgasen, d. h. namentlich, sämmtliches vorhandene Oxyhaemoglobin ohne Verlust zu Haemoglobin zu reduciren. Man empfindet diese Schwierigkeit besonders in dem Falle, wo es gilt, in der Lösung des erst reducirten, nachher aber sei es mit Sauerstoff, sei es mit Kohlenoxyd verbundenen Farbstoffes den Gehalt an solchem Stoffe spectrophotometrisch zu bestimmen. Ist während der Reduction noch eine andersartige Veränderung mit dem Körper vor sich gegangen, vielleicht eine geringe Selbstoxydation, so ist das Spectrum nicht mehr rein und jeder Versuch, die Quantität des unzersetzten Körpers auf diesem Wege genau zu ermitteln, wird illusorisch.

An eine rasche und saubere Reduction einer so grossen Oxyhaemoglobinmenge mit Hülfe des Vacuums ist gar nicht zu denken; auch die Reduction mittelst durch die Lösung geleiteten Wasserstoffes würde bei der langen Dauer des Processes das Auftreten unliebsamer Nebenreactionen nicht ausschliessen, ja würde wahrscheinlich bei gewöhnlicher Temperatur gar nicht einmal eine vollständige werden. So blieb denn nur die Wahl chemischer Reduktionsmittel übrig.

Aber auch unter diesen ist die Auswahl für den gedachten Zweck äusserst beschränkt. Da es nicht darauf ankommt, koste es was es wolle, den Sauerstoffgehalt einer Oxyhaemoglobinlösung zu erfahren, ohne Rücksicht auf die chemische Integrität des zurückbleibenden Trägers desselben, sondern umgekehrt vielmehr darauf, reines sauerstoffreies Haemoglobin zu gewinnen, ohne Rücksicht auf das Schicksal des abgetrennten Sauerstoffes,

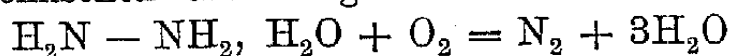
und da weiter auch wegen der nachfolgenden Spectrophotometrie die Reinheit des physiologischen Blutspectrums nicht zerstört werden darf, so sind solche chemische Reductionsmittel ausgeschlossen, 1. deren Wirkung mit der Bildung einer Säure verbunden ist — denn alle Säuren zerstören, woran oben erinnert wurde, das Haemoglobin überhaupt —, 2. solche, die gefärbt sind und deshalb selber schon Licht absorbiren.

Die Anwendung der Fäulniss bei Luftabschluss war aber gleichfalls ausgeschlossen, da die Fäulnissbakterien auch bei Abwesenheit von Sauerstoff, wenn nur Eiweissnahrung zugegen ist, doch noch fortgesetzt Gase entwickeln.

Ich wandte mich nach einigem Umherprobiren, besonders mit Traubenzucker bei Gegenwart von schwacher Natronlauge, zuletzt zu dem von Curtius entdeckten Hydrazin; aber nicht in der von Curtius selber¹ empfohlenen Form eines Salzes, sondern in der Form des Hydrates. Während der Reduction mit diesem wird nur Stickstoff frei; bei Anwendung eines Salzes würde gleichzeitig die zu fürchtende Säure auftreten.

Um mit Hülfe dieses Mittels mit einem Male grössere Mengen reducirten Haemoglobins zu gewinnen, fügte ich zu den aus 200^{ccm} Blut ausgeschleuderten Körperchen soviel $\frac{1}{10}$ procentiger Sodalaug, dass die Gesamtmenge der Lösung etwa 600^{ccm} betrug. Alsdann stellte ich durch eine vorläufige photometrische Untersuchung annähernd deren Gehalt an Farbstoff fest und berechnete unter der Annahme, dass 1^{grm} davon höchstens mit je 1.50^{ccm} Sauerstoff verbunden sei, die Hydrazinhydratmenge, die zur Reduction der Gesamtmenge des vorhandenen Oxyhaemoglobins nothwendig war.

Nach der chemischen Gleichung:



bedarf ein Molekül Hydrazinhydrat zur Oxydation seines Amidwasserstoffes ein Molekül Sauerstoff, oder also beanspruchen 50 Gewichtstheile des Reductionsmittels 32 Gewichtstheile Sauerstoff.

War nun z. B. durch die vorläufige photometrische Untersuchung festgestellt, dass die in den 600^{ccm} der Lösung enthaltene Oxyhaemoglobinmenge rund 30^{grm}, demnach die von dieser lose gebundene Sauerstoffmenge höchstens 45^{ccm} = 0.0644^{grm} betrug, so mussten zur Gesamtmenge jener Lösung $\frac{0.0644 \cdot 50}{32} = 0.1007$ ^{grm} Hydrazinhydrat ge-

¹ *Journal für praktische Chemie*. Bd. XXXIX. 1889. S. 27. — Es heisst dort S. 43: „Die Absorptionsstreifen, welche eine wässrige Blutlösung aufweist, verschwinden auf Zusatz einer Hydrazinsalzlösung fast momentan und zwar ausserordentlich viel schneller, als durch die entsprechende Menge Hydroxylaminsalz.“

fügt werden. Das mir zur Verfügung stehende Praeparat¹ enthielt in 100^{ccm} etwa 25^{grm} reinen Hydrates: es genügte somit zur glatten Reduction jener grossen Oxyhaemoglobinmenge voraussichtlich der Zusatz von wenig mehr als 0.4^{ccm} meiner Hydrazinhydratlösung.

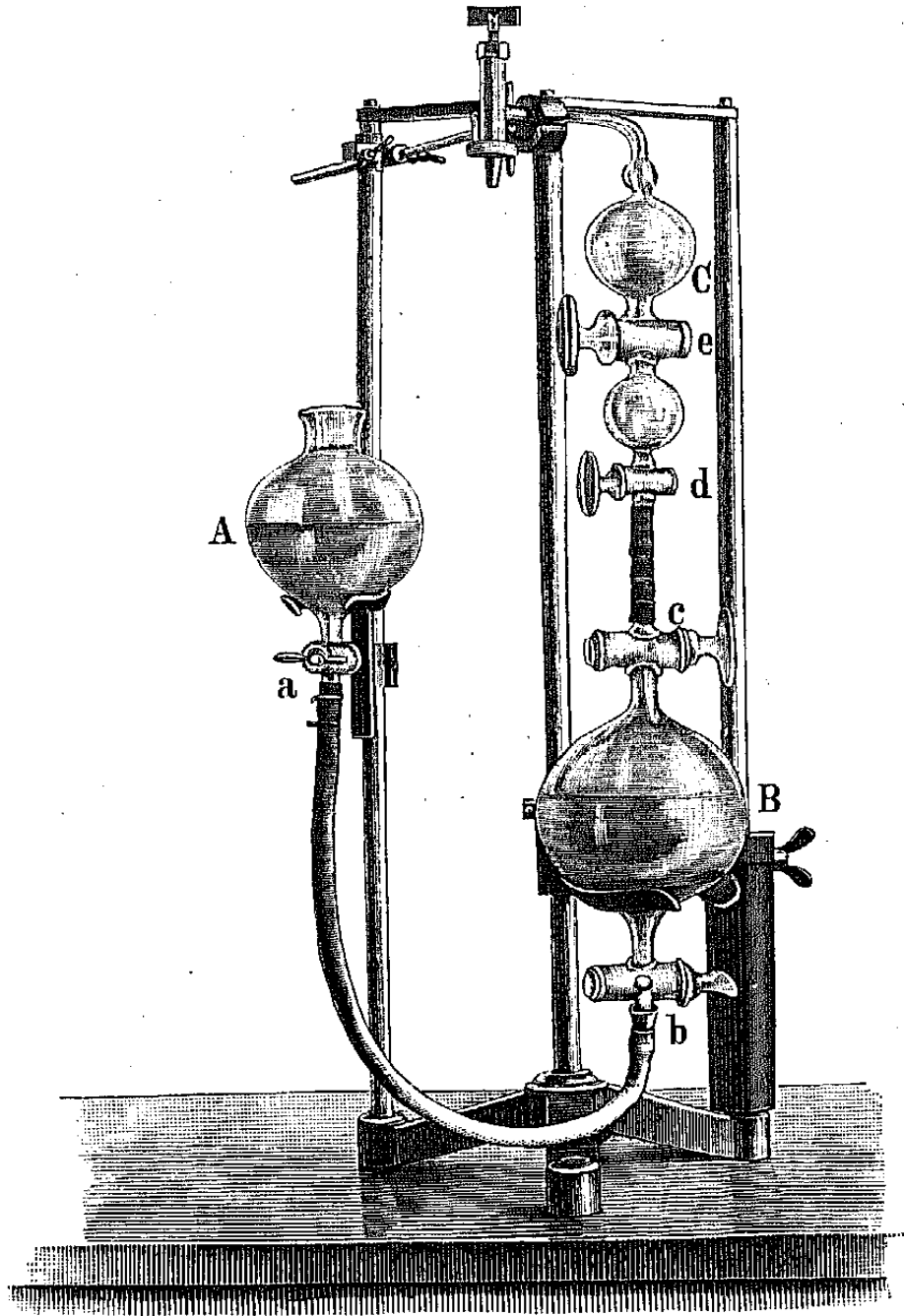


Fig. 3.

Die Mischung der beiden Flüssigkeiten und die allmähliche Reduction geschah über Quecksilber und unter einer Wasserstoffatmosphäre. Als Behälter diente die grosse Kugel *B* des in Fig. 3 abgebildeten Apparates.

¹ Ich verdanke die Anfertigung desselben dem lebenswürdigen Entgegenkommen des Hrn. Dr. Ehrenberg, technischen Leiters der chemischen Fabrik von Merck in Darmstadt.

Sind nämlich, nach Wegnahme des oben aufsitzenden Kugelapparates *C*, die beiden durch einen Kautschukschlauch mit einander verbundenen und, jede für sich, an einem festen eisernen Stative auf und ab verschiebbaren Kugeln *A* und *B* erst in gleiches Niveau gebracht, alsdann Kugel *B*, die etwas mehr als ein Liter fasst, ebenso wie der Schlauch bis zum Hahne *a*, sammt den Bohrungen *b* und *c*, vollständig mit Quecksilber angefüllt, so lässt man, während nach Oeffnung von *a* das Quecksilber langsam von *B* nach *A* hinüber sinkt, in die erstere Kugel vermittelt eines grossen oben-auf befestigten Trichters zunächst die gesammte Lösung der Körperchen, alsdann unter Nachspülen mit verdünnter Sodalösung das Hydrazinhydrat einfliessen und zum Schlusse, nachdem man *B* mit einem entsprechenden Entwickeler verbunden, auch noch einen Strom von mit übermangansaurem Kali gereinigtem Wasserstoffgas; von letzterem so viel, dass sein Volumen bei normalem Drucke etwa 300 bis 400 ^{ccm} beträgt. Ist die Lösung am Ende bei geschlossenen Hähnen recht tüchtig durcheinander geschüttelt, so beginnt alsbald die Verfärbung und eine kaum bemerkbare Entwicklung von Bläschen, die sich allmählich als feiner blasser Schaum an der Oberfläche der Flüssigkeit ansammeln.

In der Regel wurde dieser Reductionsprozess am Abend eingeleitet und das Ganze bis zum anderen Morgen sich selbst überlassen. Bis dahin war die Lösung vollständig purpurroth geworden und konnte nun, nachdem man die Kugel mit einer kräftigen Wasserstrahlpumpe in Verbindung gesetzt und die Hähne *a* und *b* geschlossen, *c* aber geöffnet hatte, unter öfterem Umschütteln durch Auspumpen völlig von Gasen befreit werden. Das Auspumpen wurde mindestens fünf bis sechs Stunden lang fortgesetzt, — so lange, bis die Flüssigkeit kein Umschütteln hart gegen die Wände der Kugel schlug und dabei kein Aufschäumen mehr eintrat. Dann wurde Hahn *c* geschlossen, *b* und *a* aber geöffnet, so dass sich die Kugel nun völlig mit der ausgekochten Lösung und mit Quecksilber anfüllte.

Fig. 3 veranschaulicht die Ueberfüllung einer Portion der so vorbereiteten Lösung in den Kugelapparat des Absorptiometers.

b) Beschreibung der einzelnen Theile des Absorptiometers.

Kugelapparat und Beschickung desselben. — Der Kugelapparat, der ebenso wie das ganze Absorptiometer schon früher, bei Gelegenheit von Versuchen über die Tension des Blutsauerstoffes, von mir benutzt und auch bereits ausführlich an anderer Stelle¹ beschrieben worden ist, besteht, wie aus Fig. 3 ersichtlich, aus zwei durch einen Hahn

² *Zeitschrift für physiologische Chemie.* Bd. XII. S. 568.

von einander getrennten Kugeln. An die untere Kugel ist ein zweiter Hahn angeschmolzen und an diesen ein etwa 5^{cm} langes offenes Glasrohr. Ein kurzer dickwandiger Kautschukschlauch, innerhalb dessen die Röhrenden sich berühren, dient zur luftdichten Verbindung dieses Ansatzrohres mit dem entsprechenden Ansatz, der sich am Hahne *c* der Kugel *B* befindet.

Die obere Kugel des Kugelapparates läuft in ein rechtwinkelig umgebogenes Rohr aus, an dessen offenes Ende ein \rightarrow förmiges Röhrenstück aus Nickelmetall angekittet ist. An diesem unterscheidet man zu unterst einen conischen Fortsatz, darüber einen Schraubenring, alsdann den Kopf einer eingeschraubten Stopfbüchse und zu oberst den Griff eines Schraubenstiftes, der sich in der Stopfbüchse luftdicht auf- und abschrauben lässt, und der am unteren Ende derart zugespitzt und in das gleichfalls conische Lumen des conischen Fortsatzes eingeschliffen ist, dass die Mündung des letzteren dadurch vollkommen luftdicht verschlossen werden kann.

Die obere Kugel dient zur Aufnahme des Gases, die untere zur Aufnahme der Lösung. Der Inhalt der letzteren betrug in meinen Versuchen etwas über 200^{ccm}.

Die Beschickung des Apparates mit der Lösung geschieht unmittelbar am Ende von deren Auspumpung in Kugel *B*. Er wird zu diesem Zwecke nach seiner Verbindung mit *B* und nach Oeffnung der Hähne *d* und *e* zunächst gleichfalls ausgepumpt, dann mit Wasserstoff gefüllt, abermals ausgepumpt und durch Eindrehung des Metallstiftes in den Conus verschlossen. Alsdann werden nach vorheriger Schliessung von *d* der Reihe nach die Hähne *c*, dann *b* und *a* geöffnet und endlich unter vorsichtiger Regulirung des Zuflusses mittelst *d* die untere Kugel langsam bis zum Hahne *e*, die Bohrung desselben einbegriffen, durch den Druck der äusseren Luft von unten auf mit der Lösung aus *B* gefüllt. Sogleich werden wieder alle Hähne geschlossen, der Kugelapparat von *B* getrennt und statt dessen mit einem Ehrenberg'schen Gasometer,¹ der das Kohlenoxydgas enthält, in der Weise verbunden, wie es aus Fig. 4 zu sehen ist. Auf das Gasometer *G* ist mittelst starken Kautschukschlauches ein gläsernes \rightarrow rohr befestigt, dessen horizontaler Ast einen gutschliessenden Glashahn trägt.

Der horizontale Ast dieses \rightarrow rohres wird nun mit der Wasserstrahlpumpe, das obere Ende des verticalen Stückes aber durch ein kurzes Kautschukrohr mit dem Metallconus des Kugelapparates in Verbindung gesetzt und letzterer nach Oeffnung der Conusmündung luftleer gepumpt. Ist dies geschehen, so wird der Hahn des gläsernen \rightarrow rohres geschlossen,

¹ *Journal für praktische Chemie.* (II.) Bd. XXXII. 1885. S. 234.

gleichzeitig aber der Hahn des Gasometers geöffnet, etwas Kohlenoxydgas in den luftleeren Raum hineingelassen und dieses sofort wieder ausgepumpt. Erst nach mehrmaliger Wiederholung dieses Verfahrens wird die

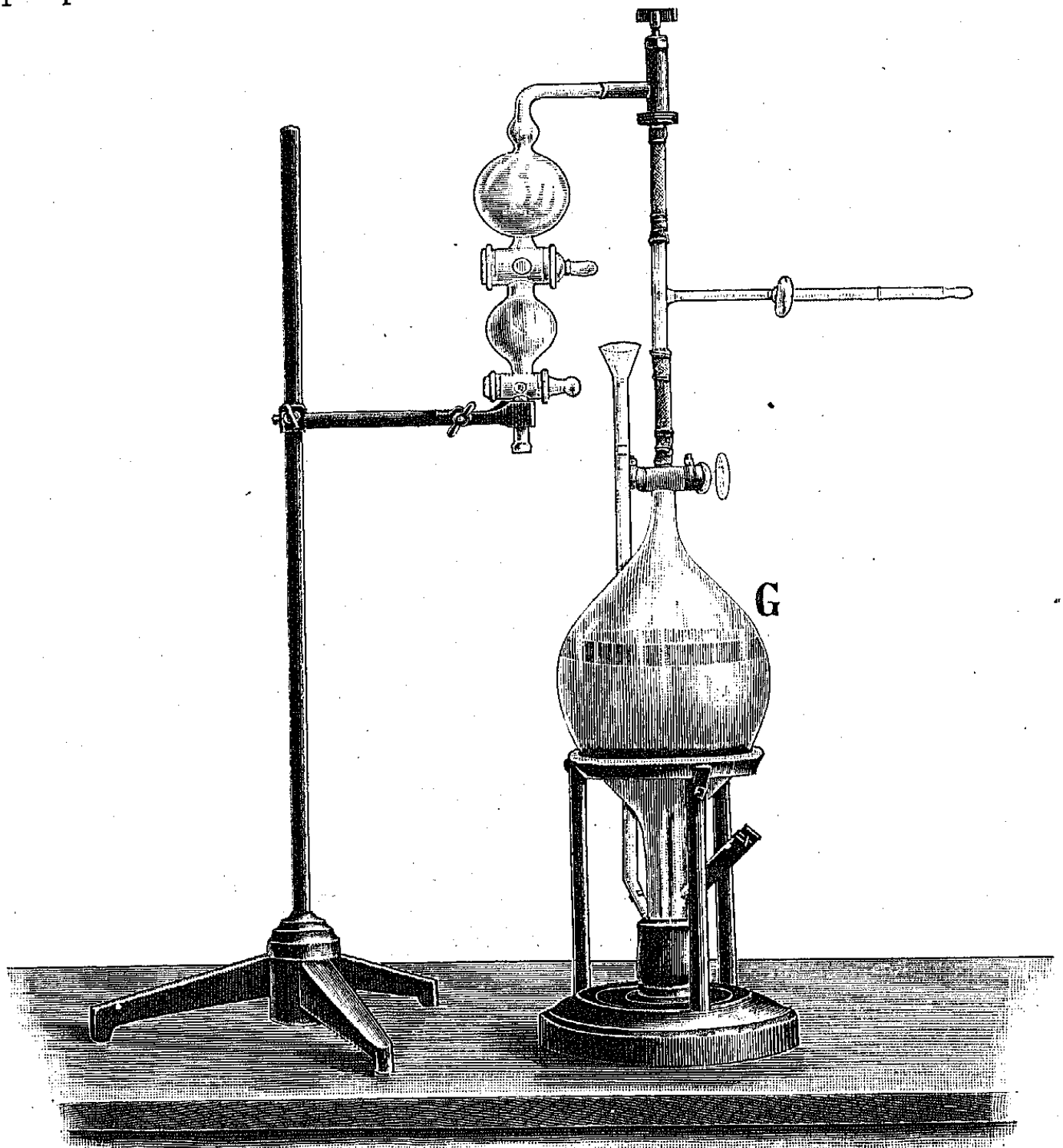


Fig. 4.

Kugel bleibend mit Kohlenoxydgas gefüllt, verschlossen und vom Gasometer getrennt.

Ich bemerke, dass sich über dem Quecksilber des Gasometers stets eine Lösung von pyrogallussaurem Kali in ausgekochtem Wasser befindet, und weiter, dass in den Gasraum des Kugelapparates vor dem Auspumpen

regelmässig einige Tropfen Wasser gespritzt werden müssen, damit darin während der ersten Messung des Gases bereits die wirkliche, der abgelesenen Temperatur entsprechende Tension des Wasserdampfes herrsche.

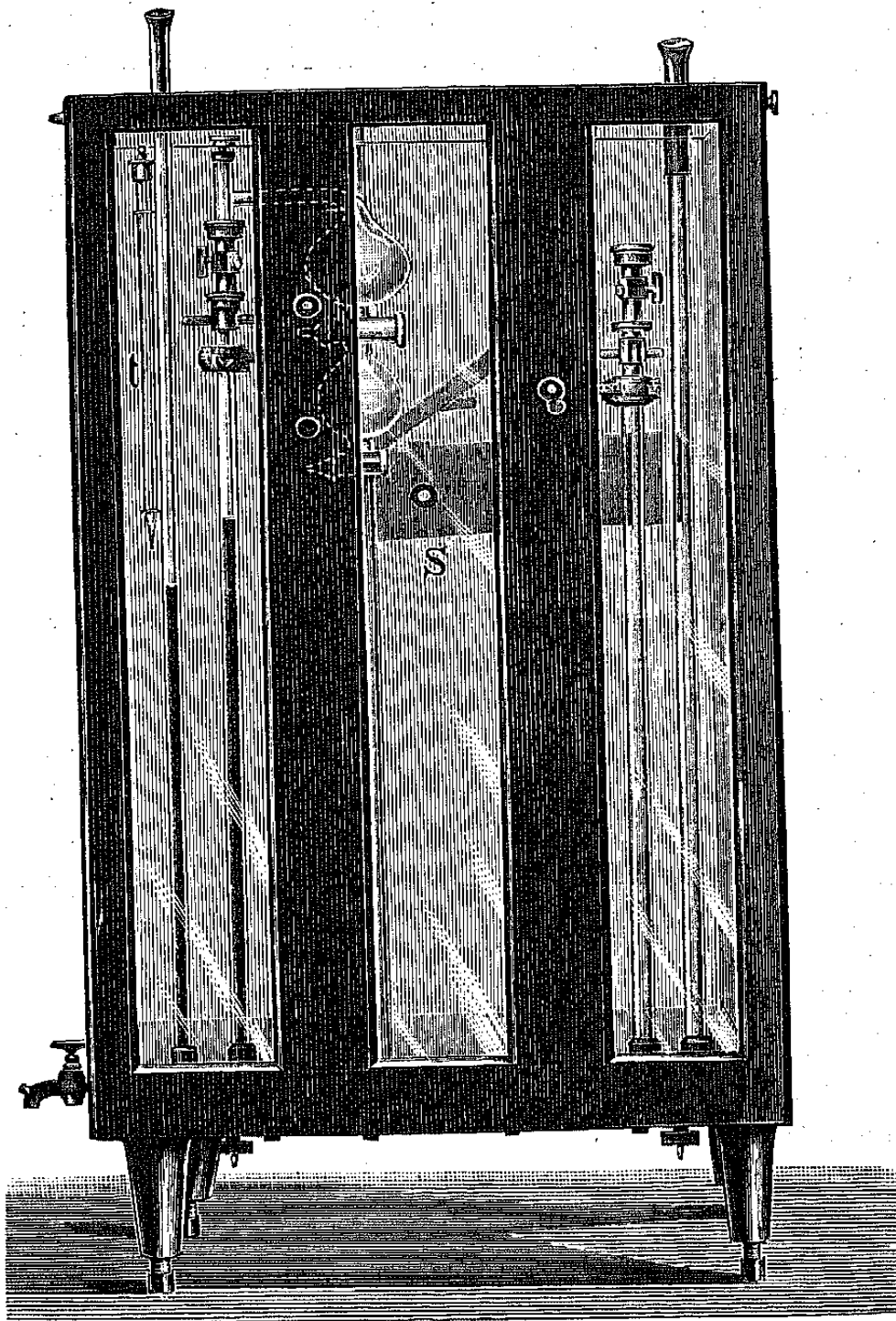


Fig. 5.

In Betreff der Bereitung des Kohlenoxydgases gilt das bereits oben Gesagte.

Manometer, Wasserständer und Schüttelvorrichtung. — Den zweiten wesentlichen Theil des Absorptimeters bildet das Manometer, das im Inneren eines grossen Wasserbehälters senkrecht befestigt ist. (In

der nebenstehenden Fig. 5 sind zwei Manometer, auf jeder Seite des Ständers eines, abgebildet, da der von mir benutzte Ständer in der That mit zweien versehen ist). Es besteht aus zwei ungleich langen, etwa 18^{mm} weiten, mit aufgeätzter Millimeterscala versehenen und genau calibrirten Glasröhren, die unten in ein solides Stück Nickelmetall eingekittet sind, innerhalb dessen die Communication der beiden Röhren durch eine hinlänglich weite Bohrung bewerkstelligt ist. Um diese Communication beliebig unterbrechen und bald aus dem einen, bald aus dem anderen Schenkel Quecksilber abfliessen lassen zu können, ist der metallische Zweiweghahn eingeschaltet, der nach unten aus dem Wasserbehälter hervorragt.

Das ganze Metallstück ist wasserdicht in den gusseisernen Boden des Wasserständers eingeschraubt und gestattet so das Hervortreten und die Handhabung des Hahnes unterhalb des letzteren.

Damit nun das Manometer luftdicht und unter Vermeidung aller schädlichen Räume mit dem Kugelapparate verbunden werden könne, ist an das obere, offene Ende des kürzeren (etwa 740^{mm} langen) Schenkels ein metallener Schraubenring angekittet, dessen oberer Rand mit dem Rande des Glases absolut eben geschliffen ist. Auf diese ringförmige Ebene kann nach Zwischenschaltung eines äusserst dünnen, gefetteten Kautschukringes mittelst einer Ueberfangschraube ein gleichfalls metallener, mit Hahn versehener Rohrfortsatz aufgepresst werden, der oberhalb des Hahnes so erweitert und ausgeschliffen ist, dass der conische Fortsatz des Kugelapparates genau in diese Erweiterung hineinpasst, und dass ferner der oben erwähnte, aus dem verschlossenen Conus hervorragende Zapfen (das Ende des Schraubenstiftes) die kleine Bohrung in der Wand des Metallhahnes vollkommen ausfüllt. Um den Conus fest und luftdicht in das Verbindungsstück hineinzupressen und darin festzuhalten, dazu dient abermals eine Ueberfangschraube. — Das zu diesen Stücken verarbeitete Metall ist durchgehends Nickel.

Der Wasserständer ist aus einer dicken eisernen Bodenplatte mit vier gusseisernen Füßen von 15^{cm} Höhe, einem eisernen Gerippe und aus starken Spiegelglasscheiben zusammengesetzt. Da seine Höhe 98, die Breite 58 und die Tiefe 32^{cm} beträgt, so vermag er beinahe 182 Liter Wasser zu fassen.

In die beiden Breitseiten desselben sind in gleichen Abständen von einander noch zwei verticale eiserne Zwischenrippen eingeschaltet, zu dem Zwecke, um 1. den Widerstand der Glaswände gegen den Druck der Wassermasse zu unterstützen, und 2. um Haftpunkte für die zum Festhalten der Monometerröhren nöthigen Klammern und für die gleich zu erwähnende Schüttelvorrichtung zu gewinnen.

Die Schüttelvorrichtung (auf der Zeichnung bei *S* angedeutet)

besteht aus einer schmalen, aus drei dünnen Holzplatten zusammengefügtten Rinne, deren eine Seite, durch Charniere beweglich, nach aussen umgeklappt, in aufrechter Stellung aber durch einen Haken an der gegenüberstehenden Platte festgehalten werden kann. In dieser Rinne, deren Wände mit kreisförmigen Ausschnitten für die Glaskugeln versehen sind, lässt sich der Kugelapparat, nachdem er vom Manometer gelöst worden, sicher einklemmen und sammt ihr lässt er sich auch vermittelst einer Kurbel in raschen Stössen unter dem Wasser hin und her bewegen.

Die Temperatur des Wassers wird durch ein feines, in Zehntelgrade getheiltes Thermometer gemessen, an dem sich Zwanzigstelgrade noch deutlich ablesen lassen. Es ist, wie aus der Zeichnung ersichtlich, neben dem längeren Schenkel des Manometers (Fig. 5, *t*) befestigt.

c) Ausführung eines Absorptionsversuches.

Ist der Kugelapparat mit der Lösung und mit Kohlenoxydgas beschickt, so senkt man ihn rasch in den ziemlich bis an den Rand mit Wasser gefüllten Wasserständer und verbindet ihn, wie vorhin angegeben, mit dem Manometer, aus dessen kürzerem, zur Herstellung der richtigen Tension inwendig mit Wasser befeuchteten Schenkel schon vorher alle Luft durch Quecksilber verdrängt wurde. Hierauf zieht man durch eine bestimmte Anzahl von Umdrehungen seines Griffes den Schraubenstift aus dem metallenen Conus, öffnet den Metallhahn, der sich unmittelbar unter dem letzteren befindet, und stellt so die Communication her zwischen dem Gasraume des Kugelapparates und dem Inneren des Manometers.

In der Regel ist es nothwendig, noch etwas Quecksilber aus letzterem ausfliessen zu lassen, damit das Gas nicht bloss die Kugel erfülle, sondern auch noch einen hinlänglich grossen, genau messbaren Raum im bezüglichen Manometerschenkel einnehme. Dann wartet man etwa 5 bis 10 Minuten, bis der Stand des Quecksilbers in beiden Schenkeln sich nicht mehr ändert und vollführt hierauf die zur Messung des vorhandenen Gasvolumens nöthigen Beobachtungen.

Die erforderlichen Daten sind:

1. Die Temperatur des Wassers im Ständer;
2. der Stand des Quecksilberniveaus im offenen — linken — Manometerrohr, abgelesen an der Scala des Staudinger'schen Kathetometers;
3. Stand des Quecksilberniveaus in dem mit dem Kugelapparate communicirenden — rechten — Manometerrohr, ebenso abgelesen;
4. Stand des gleichen Niveaus, zum Zwecke der Volumenmessung¹ abgelesen an der auf das Glasrohr selbst aufgeätzten Scala;

¹ Das zu messende Gasvolumen setzt sich zusammen aus 1. dem Volumen der Kugel; 2. dem des daran gefügten gläsernen Knierohres; 3. dem Hohlraume des

5. der Barometerstand;
6. die Temperatur am Barometer.

Sind diese Beobachtungen, die zweckmässig nach Verlauf von 8 bis 10 Minuten nochmals wiederholt werden, ausgeführt, so schliesst man erst Conus, dann Hahn, trennt den Kugelapparat vom Manometer und befestigt ihn in der Schüttelvorrichtung.

Hierauf öffnet man den Hahn zwischen den beiden Kugeln, lässt Haemoglobinlösung und Gas sich über beide Kugeln vertheilen und schüttelt alsdann das Ganze mehrere Minuten hindurch auf das Kräftigste. Danach bringt man den Kugelapparat abermals mit dem Manometer in Verbindung, öffnet die Verschlüsse und beobachtet die eingetretene Aenderung im Stande des Quecksilbers. Man wiederholt das Schütteln so lange, bis dieser sich nicht mehr verändert. In der Regel ist der Stillstand schon nach wenigen Minuten erreicht, so dass man von Neuem die nöthigen Ablesungen machen kann.

Folgende Tabelle mag die Verwerthung der gewonnenen Versuchsdaten an einem Beispiele klar machen, das einer am 16. Juli 1893 ausgeführten Versuchsreihe entnommen ist. Sie enthält ausser den direct beobachteten Zahlen auch noch die reducirten Werthe. — Unter dem Zeichen b ist stets der Normalbarometerstand = 760^{mm} zu verstehen.

Vor dem Schütteln.

Temperatur des Wassers im Ständer	$t = 19.75^{\circ} \text{C.}$
Barometerstand	$b'_z = 734.20 \text{ mm}$
Temperatur am Barometer	$\tau = 21.0^{\circ} \text{C.}$
Barometerstand, reducirt auf 0°	$b'_0 = 731.6 \text{ mm}$
Quecksilberniveau links	$l = 860.6 \text{ „}$
rechts	$r = 860.2 \text{ „}$
Unterschiede der beiden ($l-r$)	$= b''_t = +0.4 \text{ „}$
Derselbe, reducirt auf 0°	$b''_0 = +0.4 \text{ „}$

metallenen —stückes, und zwar, wenn der Conus geöffnet, daher der Schraubenstift um eine bestimmte Anzahl von Windungen in die Höhe geschraubt ist; 4. dem Volumen der in der oberen Wand des metallenen Hahnes befindlichen Bohrung, in die bei geschlossenem Conus das zapfenförmige Ende des Schraubenstiftes hineinpasst; 5. dem Hohlräume des metallenen Verbindungsstückes, welches den Hahn trägt, die Hahnbohrung also eingeschlossen; 6. dem vom Gase eingenommenen Raume des anstossenden Manometerschenkels, und zwar von dem eben geschliffenen oberen Rande desselben bis zur Kuppe der Quecksilbersäule. — Alle diese Räume müssen daher genau calibrirt sein. — Das Volumen der Räume 1 bis 4 betrug in dem von mir benutzten Apparate 210.19^{ccm}. Das Volumen des Manometerschenkels ist vom metallenen Hahne ab, dessen Bohrung eingeschlossen, nach abwärts in Cubikcentimetern ausgewerthet. Die Temperatur, bei welcher die Calibrirung geschah, schwankte zwischen 20° und 21° .

Quecksilberniveau rechts, auf Manometerscala	$m = 139.0$	mm
Dampftension bei t°	$b'''_t = 17.126$	„
Wirklicher Druck des Gases ($b'_0 - b''_0 - b'''_t$)	$= p = 714.900$	„
Abgelesenes Volumen, nach Calibrirtabelle	$V_{tp} = 238.532$	com
Dasselbe, reducirt auf 0° und 760 mm	$V_{ob} = 209.253$	„

Nach dem Schütteln:

Temperatur des Wassers im Ständer	$t = 19.85^{\circ}$	C.
Barometerstand	$b'_t = 734.30$	mm
Temperatur am Barometer	$\tau = 21.5^{\circ}$	C.
Barometerstand, reducirt auf 0°	$b'_0 = 731.6$	mm
Quecksilberniveau links	$l = 840.35$	„
„ rechts	$r = 877.90$	„
Unterschied der beiden ($l - r$)	$= b''_t = -37.55$	„
Derselbe, reducirt auf 0°	$b''_0 = -37.41$	„
Quecksilberniveau rechts, auf Manometerscala	$m = 121.20$	„
Dampftension bei t°	$b'''_t = 17.232$	„
Wirklicher Druck des Gases ($b'_0 - b''_0 - b'''_t$)	$= p = 677.0$	„
Abgelesenes Volumen, nach Calibrirtabelle	$V'_{tp} = 235.236$	com
Dasselbe, reducirt auf 0° und 760 mm	$V'_{ob} = 195.354$	„

Gehen wir nun zunächst wieder von der bekannten, wenn gleich, wie bereits oben angedeutet wurde, wahrscheinlich nicht ganz richtigen Voraussetzung aus, dass die während des Schüttelns von der Lösung aufgenommene Gasmenge $V_{ob} - V'_{ob} = Q$, aus zwei Componenten bestehe, von denen die erste constant und unabhängig vom Drucke, die zweite aber mit diesem variabel sei, dass also $Q = a + bp$, so brauchen wir wiederum nur in einer längeren Versuchsreihe die Drücke zu variiren, um dann mittelst bekannter Rechnung aus den einzelnen für Q erhaltenen Werthen a und b zu finden; und hat man endlich auf spectrophotometrischem Wege, gerade wie oben, die Menge des im angewandten Flüssigkeitsvolumen U vorhandenen Haemoglobins h in Grammen bestimmt, so ergibt sich der von uns gesuchte Werth x aus

$$x = \frac{a}{h} ,$$

der bei der Versuchstemperatur t gültige Absorptionscoefficient α_t des Gases für die Lösung aber aus der Gleichung:

$$\alpha_t = \frac{b \cdot 760}{U} .$$

Ich gebe im Folgenden die Resultate der einzelnen, von mir im Laufe des Sommers 1893 angestellten Versuchsreihen; allein die einzelnen Versuche jeder Reihe nicht nach ihrer zeitlichen Folge, sondern vielmehr nach zunehmenden Drücken geordnet.

I. Versuchsreihe vom 16. Juni.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	20.1°	702.9	233.45	201.12	—	205.69	8.3
Nach dem Schütteln	5.	20.5°	515.1	297.33	187.46	13.66	—
	4.	20.4°	545.7	280.33	187.29	13.83	—
	3.	20.4°	590.1	259.09	187.19	13.93	—
	8.	20.7°	651.3	234.21	186.58	14.54	—
	2.	20.2°	662.4	229.97	186.64	14.48	—
	6.	20.6°	674.4	224.27	186.57	14.55	—
	7.	20.6°	700.7	217.49	186.46	14.66	—

Das Haemoglobin wurde immer als Kohlenoxyhaemoglobin bestimmt

Gilt die Gleichung $Q = a + bp$,
so berechnet sich:

$$a = 10.67$$

$$b = 0.005749$$

$$\alpha_t = 0.02124 \text{ (gültig für die Mitteltemperatur } 20.5^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1.29 \text{ cm.}$$

II. Versuchsreihe vom 22. Juni.

Die mit Hydrazinhydrat reducirte, dann ausgepumpte Lösung stand drei Tage in der Kugel, bevor sie benutzt werden konnte.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	19.25°	698.5	242.43	208.146	—	205.69	8.3
Nach dem Schütteln	8.	19.8°	525.0	302.085	194.580	13.566	—
	7.	19.7°	527.9	300.385	194.620	13.526	—
	6.	19.6°	581.8	271.780	194.130	14.016	—
	5.	19.6°	615.0	257.060	194.090	14.056	—
	4.	19.55°	654.0	241.410	193.870	14.276	—
	2.	19.4°	659.4	239.030	193.642	14.504	—
	3.	19.45°	718.4	219.010	193.246	14.882	—

Danach ist:

$$a = 10.012$$

$$b = 0.006772$$

$$\alpha_t = 0.02502 \text{ (Mitteltemperatur } = 19.6^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1.20 \text{ cm.}$$

III. Versuchsreihe vom 13. Juli.

Lösung der Körperchen frisch bereitet, während der Nacht reducirt, früh sofort ausgepumpt und dann sogleich zu den Versuchen benutzt.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln	1. 20.30°	663.7	234.458	190.589	—	205.69	7.107
	2. 20.40°	663.7	234.486	190.544	—		
			Mittel =	190.566			
Nach dem Schütteln	4. 20.60°	663.7	218.27	177.250	13.316	—	—
	3. 20.45°	627.7	231.29	177.720	12.841	—	—
	5. 20.64°	602.5	240.93	177.582	12.984	—	—
	6. 20.70°	553.7	262.75	177.946	12.620	—	—

Hiernach ist:

$$a = 9.493$$

$$b = 0.005634$$

$$\alpha_t = 0.02082 \text{ (Mitteltemperatur } 20.6^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1.336 \text{ com.}$$

IV. Versuchsreihe vom 16. Juli.

Da die reducirte Lösung nach dem Auspumpen mehrere Tage unbenutzt hat stehen müssen, wird sie unmittelbar vor den Versuchen nochmals ausgepumpt.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	19.75°	714.9	238.532	209.253	—	205.69	7.477
Nach dem Schütteln	10. 19.90°	534.8	299.446	196.413	12.840	—	—
	9. 20.0°	556.6	287.732	196.355	12.898	—	—
	8. 20.0°	591.8	269.918	195.847	13.406	—	—
	7. 19.95°	628.4	253.915	195.650	13.603	—	—
	6. 19.95°	650.4	245.323	195.663	13.590	—	—
	2. 19.85°	677.0	235.236	195.354	13.899	—	—
	5. 19.95°	677.9	234.995	195.336	13.917	—	—
	3. 19.95°	708.4	224.673	195.173	14.080	—	—
4. 19.95°	731.9	217.374	195.096	14.157	—	—	

Es ist also:

$$a = 9.11$$

$$b = 0.007012$$

$$\alpha_t = 0.02591 \text{ (Mitteltemperatur. = } 19.95^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1.22 \text{ com.}$$

V. Versuchsreihe vom 21. Juli.
Neu zubereitete und sofort benutzte Lösung.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	20·90°	655·9	237·366	190·313	—	205·69	9·65
Nach dem Schütteln	8.	21·30°	489·2	293·040	174·978	15·335	—
	7.	21·30°	550·7	259·619	174·521	15·792	—
	6.	21·28°	579·3	246·468	174·285	16·028	—
	3.	21·15°	586·7	243·297	174·328	15·985	—
	9.	21·30°	602·8	236·650	174·116	16·197	—
	5.	21·30°	610·3	233·717	174·092	16·221	—
	2.	21·02°	610·4	233·440	174·088	16·225	—
4.	21·30°	651·9	218·530	173·880	16·435	—	

Danach ist:

$$a = 11·96$$

$$b = 0·006954$$

$$\alpha_t = 0·02569 \text{ (Mitteltemperatur} = 21·3^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1·239 \text{ cm.}$$

VI. Versuchsreihe vom 26. Juli.

Neue Lösung, sofort zu den Versuchen benutzt.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	20·93°	680·9	237·384	197·549	—	205·69	7·15
Nach dem Schütteln	9.	21·15°	510·6	297·067	185·244	12·305	—
	8.	21·10°	516·5	293·549	185·196	12·353	—
	7.	21·13°	530·4	285·837	185·162	12·387	—
	6.	21·15°	548·4	276·211	184·990	12·559	—
	5.	21·13°	566·0	267·434	184·869	12·680	—
	4.	21·13°	590·2	256·223	184·692	12·857	—
	3.	21·03°	612·3	246·730	184·580	12·969	—
	2.	21·04°	644·1	234·236	184·331	13·219	—
	10.	21·20°	690·3	218·437	184·117	13·432	—

Hiernach ist:

$$a = 8·986$$

$$b = 0·006505$$

$$\alpha_t = 0·02403 \text{ (Mitteltemperatur} = 21·1^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1·256 \text{ cm.}$$

VII. Versuchsreihe vom 28. Juli.
Abermals frische Lösung; sofort benutzt.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	20.8°	687.8	234.958	197.593	—	205.69	7.53
Nach dem Schütteln	9.	20.92°	510.7	295.872	184.676	12.917	—
	8.	20.90°	521.9	289.153	184.457	13.136	—
	7.	20.90°	536.0	281.366	184.339	13.254	—
	6.	20.90°	554.8	271.713	184.258	13.335	—
	5.	20.88°	575.9	261.550	184.125	13.468	—
	4.	20.85°	597.1	252.095	184.018	13.575	—
	3.	20.90°	627.7	239.643	183.864	13.729	—
	2.	20.84°	648.6	231.353	183.443	14.150	—
	10.	20.95°	688.4	218.251	183.615	13.978	—

Daraus ergibt sich:

$$a = 9.805$$

$$b = 0.006251$$

$$\alpha_t = 0.02309 \text{ (Mitteltemperatur} = 20.9^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1.302 \text{ ccm.}$$

VIII. Versuchsreihe vom 6. August.
Frische Lösung, etwas verdünnter, sonst ganz wie vorher.

Nummer der Beobachtung	t	p	V_{tp}	V_{ob}	Q	U	h_c
Vor dem Schütteln 1.	20.5°	679.4	230.363	191.606	—	205.69	5.5
Nach dem Schütteln	9.	20.84°	512.9	289.324	181.417	10.189	—
	8.	20.85°	526.2	281.842	181.304	10.302	—
	7.	20.84°	544.1	272.356	181.166	10.440	—
	6.	20.82°	561.8	263.540	181.016	10.590	—
	5.	20.82°	585.8	252.546	180.876	10.730	—
	4.	20.75°	613.7	240.821	180.738	10.868	—
	3.	20.70°	635.1	232.296	180.457	11.149	—
	2.	20.62°	648.2	227.649	180.495	11.110	—
	10.	20.85°	674.6	218.720	180.379	11.227	—

Also ist:

$$a = 6.831$$

$$b = 0.006624$$

$$\alpha_t = 0.02447 \text{ (Mitteltemperatur} = 20.8^\circ)$$

$$x = \frac{a}{h_c} = 1.242 \text{ ccm.}$$

Die einzelnen Versuchsreihen haben also wiederum ziemlich stark von einander abweichende Resultate geliefert, sowohl in Betreff des gewünschten x -werthes, wie hinsichtlich des Absorptionscoefficienten α_t . Das einzig Gemeinsame, was sie bieten, ist der Umstand, dass sämtliche Werthe von x kleiner als 1.35 und dass sie meist grösser als 1.20 sind.

Stellt man nun die wesentlichen Resultate der acht Versuchsreihen, d. h. die Werthe von α_t und von x , wie in folgender Tabelle, unter einander, daneben aber die bezüglichen Werthe zweier wichtiger Grössen, die als Versuchsbedingungen auftraten, und zwar 1. der während je einer Versuchsreihe herrschenden Mitteltemperatur t , und 2. des jedesmaligen Procentgehaltes der Lösung,

Nummer der Versuchsreihe	t	Procentgehalt	α_t	$\frac{\alpha}{h} = x$
I.	20.5°	4.03	0.02124	1.290
II.	19.6°	4.03	0.02502	1.200
III.	20.6°	3.45	0.02082	1.336
IV.	20.0°	3.63	0.02591	1.220
V.	21.3°	4.69	0.02569	1.239
VI.	21.1°	3.47	0.02403	1.256
VII.	20.9°	3.66	0.02309	1.302
VIII.	20.8°	2.67	0.02447	1.242

so lässt sich irgend welcher Zusammenhang zwischen der Grösse je eines gefundenen x -werthes und der zugehörigen Temperatur und Concentration der Lösung zunächst durchaus nicht auffinden; wohl aber kann man sofort erkennen, dass, je grösser α_t , um so kleiner im Allgemeinen x wird. Am auffallendsten zeigt sich diese Beziehung bei den Reihen III, IV, V, VI, VII und VIII.

Diese bemerkenswerthe Erscheinung und mit ihr die bedeutenden Abweichungen der einzelnen x -werthe von einander bestätigen jedenfalls das bereits oben ausgesprochene Bedenken, ob denn die Bedingungsgleichung $Q = a + bp$, die der Berechnung aller meiner Versuchsergebnisse zu Grunde liegt, in unserem Falle auch wirklich zulässig sei. Die Verbindungen des Haemoglobins mit Gasen sind ja sehr dissociable Substanzen, und die Menge unzersetzter, noch nicht dissociirter, Verbindung, die sich in Lösung befindet, ist ja abhängig von dem Drucke, den das bezügliche Gas auf die Lösung des Farbstoffes ausübt. Demnach kann von einem constanten, vom Drucke unabhängigen α , als dem Ausdrucke für die an das Haemoglobin locker gebundene Gasmenge, überhaupt niemals die Rede sein.

Allerdings hätte man meinen können, dass bei den in den obigen Versuchen angewandten Drücken, selbst bei den niedrigsten derselben (489.2 mm), die fragliche Dissociation noch viel zu gering, dass sie jeden-

falls schwerlich genau zu messen sein werde; allein das auffallende Ergebniss liegt nun einmal vor; und wenn man nicht an die Entwicklung und den Austritt andersartiger Gase aus dem Fluidum, die während der einzelnen Versuche etwa stattgefunden (etwa Stickstoff oder Kohlensäure), denken will, so bleibt beim Versuche, es zu deuten, die Annahme einer Dissociation doch immer die nächstliegende.¹ Diese Annahme wollen wir für die folgende Betrachtung einmal festhalten.

Es wurde weiter oben daran erinnert, dass der Absorptionscoefficient eines Gases für eine Lösung im Allgemeinen kleiner ist, als für das reine Lösungsmittel.

Nun ist nach L. W. Winkler² der Absorptionscoefficient des Kohlenoxyds für Wasser bei einer Temperatur von $20^{\circ} = 0.02319$. Wir werden also erwarten dürfen, dass der Absorptionscoefficient desselben Gases für eine Haemoglobinlösung von gleicher Temperatur kleiner sein werde, als der oben genannte. Unter den oben, S. 170, zusammengestellten Absorptionscoefficienten sind in der That zwei, die einen kleineren Werth haben, nämlich die Zahlen 0.02124 und 0.02082 aus den Versuchsreihen I und III. Die erste Zahl ergab sich aus Versuchen mit einer Lösung von 4 Procent bei der Temperatur 20.5° , die zweite aus solchen mit einer 3.45 procent. Lösung bei einer nahezu identischen Temperatur (20.6°).

Man wird wohl wenig fehl gehen, wenn man das Mittel aus diesen beiden kleinsten Zahlen, 0.02124 und $0.02082 = 0.02103$, als den wahrscheinlich richtigen Coefficienten betrachtet, und zwar gültig für die Temperatur 20.5° und für einen Procentgehalt der Haemoglobinlösung = 4 Procent.

In der That: legt man diese Zahl zu Grunde, so gelingt es, unter Berücksichtigung 1. der kleinen Abweichungen zwischen den mittleren Versuchstemperaturen, 2. der geringen Verschiedenheiten im Procentgehalte der Lösung, leicht, auf dem Wege der Interpolation Werthe für die in den einzelnen Versuchsreihen geltenden Absorptionscoefficienten zu finden, deren Anwendung bei der jedesmaligen Berechnung von x am Ende zu einer sehr befriedigenden Uebereinstimmung zwischen den einzelnen x -werthen zu führen vermag.

Ein paar Beispiele mögen die Art der Interpolation und die Berechnung des einzelnen Endresultates klar machen.

Doch sei vorerst Folgendes vorausgeschickt. Nach L. W. Winkler³ ist der Absorptionscoefficient des Kohlenoxyds für Wasser von $15^{\circ} =$

¹ Ich gedenke den Verlauf der Dissociation des Kohlenoxydhaemoglobins zum Gegenstande einer besonderen Untersuchung zu machen.

² *Zeitschrift für physikalische Chemie*. 1892. Bd. IX. S. 171.

³ A. a. O.

0.02543, für Wasser von $20^{\circ} = 0.02319$ und für solches von $25^{\circ} = 0.02141$; folglich sinkt derselbe mit steigender Temperatur, wenn man geradlinig interpolirt, zwischen 15° und 20° um je 0.000448, und zwischen 20° und 25° um je 0.000356 für den einzelnen Grad. Für Wasser von 20.5° wird er also 0.02301 sein.

Bei der gleichen Temperatur soll er aber nach der obigen Festsetzung für eine 4 procentige Haemoglobinlösung 0.02103 betragen. Ein Gehalt von 4 Procent an Haemoglobin vermindert ihn also um $0.02301 - 0.02103 = 0.00198$ und ein solcher von 1 Procent — bei wiederum geradliniger Interpolation — um $\frac{0.00198}{4} = 0.000495$.¹

Ich wähle nun als erstes Beispiel die Versuchsreihe IV.

Der Procentgehalt der Lösung betrug hier 3.63 und die Temperatur 20.0° . Sowohl Procentgehalt wie Temperatur hatten also niedrigere Werthe, als im angenommenen Normalfalle; beide Abweichungen müssen deshalb auf den Absorptionscoefficienten erhöhend wirken, und zwar muss eine Abnahme des Procentgehaltes um rund 0.4 Procent eine Erhöhung desselben um $4 \cdot 0.0000495 = 0.000198$, und ein Sinken der Temperatur von 20.5° auf 20.0° , — wenn man den Einfluss der Temperatur auf die Veränderung des Coefficienten innerhalb eines so kleinen Intervalles für beide Flüssigkeiten, Wasser und Blutlösung, einmal als gleich annimmt, — eine Erhöhung um $5 \cdot 0.0000356 = 0.000178$, beide Einflüsse zusammen also eine Erhöhung um $0.000198 + 0.000178 = 0.000376$, demnach ein Wachsen des Werthes von 0.02103 bis auf 0.02141 zur Folge haben. Die Menge v des von 205.69^{ccm} einer 3.63 procentigen Haemoglobinlösung unter einem Drucke von 760^{mm} und bei der Temperatur 20° physikalisch absorbirten Kohlenoxydgases kann also höchstensfalls $205.69 \cdot 0.02141 = 4.403$ betragen.

Nun hatte die Rechnung in Versuchsreihe IV für a den Werth 9.11, für b aber den Werth 0.007012 ergeben. Die Gesamtmenge Q des beim Drucke von 760^{mm} von der Lösung aufgenommenen Gases musste also in jener Versuchsreihe, da $Q = a + bp$, $9.11 + 0.007012 \cdot 760 = 9.11 + 5.329 = 14.439^{\text{ccm}}$ betragen. Zieht man jetzt von dieser Summe die Zahl 4.403 ab, so bleiben übrig:

$$14.439 - 4.403 = 10.036^{\text{ccm}}.$$

Das ist aber diejenige Gasmenge, die von 7.48 Gramm Haemoglobin locker chemisch gebunden sein müsste, wenn nicht ein Theil der Verbindung dissociirt wäre.

¹ Der Gehalt der Lösung an Eiweiss und anderen Stoffen ist hier als zu belanglos ganz ausser Acht gelassen.

Auf 1 Gramm Haemoglobin kämen demnach

$$x = \frac{10 \cdot 036}{7 \cdot 48} = 1 \cdot 341 \text{ cc}.$$

Als zweites Beispiel wähle ich Versuchsreihe V. Procentgehalt der Lösung und Temperatur waren hier höher als im Normalfalle, mussten also dessen Absorptionscoefficienten verkleinern.

Die Erhöhung des Procentgehaltes der Lösung um rund 0.7 bedingt eine Abnahme um $7 \cdot 0 \cdot 0000495 = 0 \cdot 0003465$, und das Steigen der Temperatur um $0 \cdot 8^\circ$ eine Abnahme um $8 \cdot 0 \cdot 0000356 = 0 \cdot 0002848$. Der Absorptionscoefficient für eine Lösung von 4.69 Procent bei der Temperatur $21 \cdot 3^\circ$ wird also $= 0 \cdot 02103 - 0 \cdot 0003465 - 0 \cdot 0002848 = 0 \cdot 02040$; und die von $205 \cdot 69 \text{ ccm}$ dieser Lösung unter dem Drucke von 760 mm physikalisch absorbirte Kohlenoxydmenge ist demnach $4 \cdot 20 \text{ ccm}$.

Nun war in jenem Falle $a = 11 \cdot 96$, $b = 0 \cdot 006954$ gefunden worden: folglich ist Q beim Drucke von $760 \text{ mm} = 11 \cdot 96 + 0 \cdot 006954 \cdot 760 = 11 \cdot 96 + 5 \cdot 285 = 17 \cdot 245 \text{ ccm}$. Nach Abzug von $4 \cdot 20$ bleiben

$$17 \cdot 245 - 4 \cdot 20 = 13 \cdot 045 \text{ ccm}.$$

Diese müssten an $9 \cdot 67 \text{ grm}$ Haemoglobin gebunden geblieben sein, wenn abermals keine Dissociation stattgefunden hätte. Es ergibt sich aber die an 1 grm gebundene Menge

$$x = \frac{13 \cdot 045}{9 \cdot 67} = 1 \cdot 349 \text{ ccm}.$$

In der eben durchgeführten Weise wurden nun auch die Ergebnisse der übrigen Versuchsreihen (II, VI, VII, VIII) umgerechnet.

Ich gebe die neuen Werthe zugleich mit den ursprünglichen, sowie mit den bezüglichlichen Procentgehalten und Temperaturen in folgender kleinen Tabelle übersichtlich zusammengestellt.

Nummer der Versuchsreihe	Procentgehalt	Temper.	Direct erhaltene Werthe		Neu berechnete Werthe	
			α_t	x	α_t	x
II. ¹	4.03	$19 \cdot 6^\circ$	0.02502	1.200	0.02138	1.297
IV.	3.63	$20 \cdot 0^\circ$	0.02591	1.220	0.02141	1.341
V.	4.69	$21 \cdot 3^\circ$	0.02569	1.237	0.02040	1.349
VI.	3.47	$21 \cdot 1^\circ$	0.02408	1.256	0.02103	1.344
VII.	3.66	$20 \cdot 9^\circ$	0.02309	1.302	0.02103	1.358
VIII.	2.67	$20 \cdot 8^\circ$	0.02447	1.242	0.02160	1.348
					Mittel =	1.3395

¹ Es wurde schon oben, S. 166 angedeutet, dass die zu dieser Versuchsreihe benutzte Lösung wahrscheinlich nicht mehr ganz unanfechtbar war.

Nimmt man das Mittel nicht aus den durch Umrechnung erhaltenen Werthen allein, sondern berücksichtigt man zugleich die in den Versuchsreihen I und III direct gefundenen Werthe: 1.29 und 1.336, da die in diesen Reihen gefundenen Absorptionscoefficienten ja als normale angesehen wurden, lässt aber dafür die Ergebnisse von Versuchsreihe II, da diese wahrscheinlich nicht mit ganz tadelfreier Lösung angestellt wurde, überhaupt völlig aus dem Spiele, so ergibt sich als Gesamtmittel die Zahl 1.338.

So sieht man denn in der That, dass in der Bedingungsgleichung: $Q = a + bp$ der Werth von a , d. h. des an das Haemoglobin gebundenen Kohlenoxydantheiles, um so kleiner wird, je grösser die angenommene Dissociation. Das durch Dissociation freigewordene Gas täuscht nur einen grösseren Absorptionscoefficienten vor.

War, dass die Zahl 1.338 den richtigen Werth für das gesuchte x darstelle, schon dadurch sehr wahrscheinlich geworden, dass sowohl die absorptiometrischen, wie die nach der Verdrängungsmethode, und hier sowohl die mit Blutlösungen, wie die mit Lösungen alkoholfreier Krystalle ausgeführten Versuche auf sie hinweisen, die nach der Verdrängungsmethode ausgeführten sich ihr von unten her wenigstens nähern, so ist diese Wahrscheinlichkeit nun auch noch zur Gewissheit geworden durch die Resultate, welche neuerdings wiederholte Bestimmungen des Eisengehaltes für das Rinderhaemoglobin ergeben haben.

Die dazu verwandten Praeparate waren von mir selbst zu verschiedenen Zeiten in der bekannten Weise dargestellt und durch dreimaliges Umkrystallisiren gereinigt worden.

Die eine Eisenbestimmung von Praeparat I wurde in meinem eigenen Institute ausgeführt; die vier Bestimmungen von Praeparat II hat Hr. Dr. Jaquet in Basel zu übernehmen die grosse Güte gehabt.

Praeparat I.

1.9795^{grm} einer bei 115° bis zu constantem Gewichte getrockneten Probe, in einen grossen Porzellantiegel gebracht und direct im Muffelofen verascht, verbrauchten nach der Reduction des Oxyds 13.3^{ccm} Chamaeleon (1^{ccm} desselben = 0.000509 Eisen) = 0.00677^{grm} = 0.3420 Procent Fe.

Praeparat II.

Bestimmung des Wassergehaltes.

2.4686^{grm} Substanz verloren bei 110° 0.2456^{grm} = 9.95 Procent Wasser.

3.8436^{grm} Substanz verloren bei derselben Temperatur 0.3844 = 10.0 Procent Wasser.

Der Wassergehalt des Praeparates betrug also im Mittel 9.98 Procent.

Eisenbestimmungen.¹

1. 8.6722^{grm} (= 7.8067 Trockensubstanz) verbrauchten 35.6^{ccm} Chamaeleonlösung (1^{ccm} = 0.00075 Fe) = 0.0267^{grm} = 0.3420 Procent Fe.

2. 10.4622^{grm} (= 9.4181 Trockensubstanz) verbrauchten 41.65^{ccm} Chamaeleon (vom gleichen Titer) = 0.0312^{grm} Fe = 0.3316 Procent Fe.

3. 7.6376^{grm} (= 6.8754 Trockensubstanz) verbrauchten 30.5^{ccm} Chamaeleon (vom gleichen Titer) = 0.0229^{grm} Fe = 0.3327 Procent Fe.

4. 5.6738^{grm} Trockensubstanz (bei Gelegenheit der Wasserbestimmung gewonnen) verbrauchten 25.25^{ccm} Chamaeleon (vom gleichen Titer) = 0.0189 Gramm Fe = 0.3338 Procent Fe.

Der Procentgehalt des Rinderhaemoglobins an Eisen ergibt sich also im Mittel aus den fünf Bestimmungen = $\frac{1.6821}{5} = 0.336$ Procent.

Ein solcher Eisengehalt entspricht einem Molekulargewichte des Körpers = 16669. Da nun das Kohlenoxydhaemoglobin, ebenso wie das Oxyhaemoglobin, eine sogenannte Molekularverbindung, das Molekulargewicht des Kohlenoxydes aber = 28 ist, so erfordert 1^{grm} Haemoglobin $\frac{28}{16669} = 0.001679$ ^{grm} Kohlenoxydgas zur Sättigung.

Das sind aber 1.34^{ccm} (bei 0° und 760^{mm} Druck).

Es lassen sich nun zum Schlusse die thatsächlichen Ergebnisse dieser Arbeit — im Gegensatze zu den Behauptungen Bohr's — kurz folgendermaassen zusammenfassen:

1. In gesundem, frischem Rinderblute ist nur einerlei Haemoglobin, ein Körper von stets gleich grossem Molekulargewichte, enthalten; denn

a) das Spectrum frischen, mit $\frac{1}{10}$ procentiger Sodalösung etwa 150fach verdünnten Rinderblutes ist, in den charakteristischen Regionen photometrisch untersucht, genau dasselbe wie dasjenige einer mit dem gleichen Lösungsmittel bereiteten, gleich concentrirten, Lösung frisch dargestellter Rinderblutkrystalle;

¹ Das Verfahren, nach welchem Hr. Dr. Jaquet die Asche bereitete, war folgendes: „Die Substanz wurde mit Wasser und kohlen-saurem Natron auf dem Wasserbade digerirt und eingedampft; dann im Luftbade vollständig getrocknet und verbrannt; die Kohle mit heissem Wasser mehrere Male ausgezogen (im Auszuge war nie eine Spur Eisen zu constatiren), der Rückstand getrocknet und vollständig eingäschert; die Asche in Salzsäure gelöst, fast bis zur Trockne eingedampft, mit Schwefelsäure aufgenommen, reducirt und titirt.“

- b) die Kohlenoxydcapacität des unzersetzten Haemoglobins ist dieselbe, gleichviel ob dasselbe aus zerstörten Blutkörperchen direct in Lösung gegangen oder ob es erst krystallinisch dargestellt und dann wieder gelöst worden ist.
2. Der absolute Werth der Kohlenoxydcapacität des Rinderhaemoglobins, ausgedrückt durch das von der Gewichtseinheit (1^{grm}) aufgenommene Gasvolumen (reducirt auf 0° und 760^{mm} Quecksilberdruck) ist nach gasometrischen Versuchen = 1.338^{ccm}.
 3. Der Eisengehalt des Rinderhaemoglobins ist = 0.336 Procent, das Molekulargewicht des Körpers demnach = 16669.

Die aus diesem Molekulargewichte berechnete Kohlenoxyd- oder Sauerstoffcapacität beträgt 1.34^{ccm}.

Dass die gleichen Sätze auch für den Farbstoff aller anderen bekannten Blutarten, als: des Hundes, Pferdes, Schweines, Kaninchens, selbst des Huhnes, gelten werden, ist kaum noch zweifelhaft; ja, da nach den unter Bunge's Leitung ausgeführten Analysen der Eisengehalt für Pferde-, Hunde- und Hühnerblutfarbstoff,¹ durchschnittlich etwa der gleiche, nämlich = 0.335 Procent ist, so lässt sich — und es ist dies für die Entwicklungsgeschichte interessant genug — der obige Satz: „In gesundem, frischem Rinderblute ist nur einerlei Haemoglobin enthalten“, offenbar sogar dahin erweitern: Die Blutfarbstoffe einer Reihe höherer Thiere haben wasserfrei sämmtlich das gleiche Molekulargewicht und damit auch die gleiche Capacität für Kohlenoxyd und Sauerstoff.

Tübingen, im Januar 1894.

¹ *Zeitschrift für physiologische Chemie.* 1889. Bd. XIV. S. 289.