

Ueber die Quantität Sauerstoff, welche 1 Gramm Hämoglobin zu binden vermag,

von Dr. G. Hüfner.

(Fortsetzung.)

(Der Redaction zugegangen am 16. Februar.)

In Colimne 6 der im ersten Theile dieser Abhandlung¹⁾ gegebenen Tabelle waren 10 aus den jeweiligen Versuchsdaten berechnete Werthe für die obige Grösse zusammengestellt, die unter der Voraussetzung gelten konnten, dass die Blutlösung minus Hämoglobin in der That genau soviel, weder mehr noch weniger, absorbirten Sauerstoff an das Vacuum abgebe, als reines Wasser enthalten soll. Das Mittel aus jenen 10 Werthen betrug 1,100 Cc. (bei 0° und 1 Meter Quecksilberdruck).

Es war nun die Frage, ob die gemachte Voraussetzung auch richtig und ob namentlich der jedesmal berechnete Werth von v' nicht doch vielleicht zu hoch sei.

Um darüber wenigstens einen annähernden Aufschluss zu erlangen, stellte ich noch eine Versuchsreihe mit Serum an, und zwar unter Anwendung ganz des gleichen Verfahrens und derselben Apparate wie vorher. Damit aber die neuen Versuche mit den früheren in der That vergleichbar, ihre Resultate für eine Correction der früheren wirklich brauchbar seien, war es ferner nöthig, nicht mit blossen, unverdünnten, Serum zu arbeiten, sondern mit verdünnten. In den früheren Versuchen war das defibrirte Blut durchschnittlich etwa 4 Mal verdünnt worden; das spezifische Gewicht der erhaltenen Lösungen schwankte zwischen 1,013 und 1,020; das Mittel betrug für alle 10 Fälle 1,014²⁾. Das spezifische Gewicht des zu den neuen Versuchen zu verwendenden Serums musste demnach durch Verdünnen mit Wasser nicht bloss bis zum gleichen Grade, sondern womöglich noch weiter erniedrigt werden, weil ja nach Herausnahme des Hämoglobins auch

¹⁾ Diese Zeitschrift I. 329.

²⁾ Journ. f. pr. Chem. Neue Folge, XVI. 312.

dasjenige jener früheren Lösungen noch weiter gesunken wäre. Es betrug deshalb in der neuen Versuchsreihe im Mittel nicht mehr als 1,012. Die durch den wechselnden Barometerstand sowie durch die wechselnde Temperatur herbeigeführten Schwankungen im Werthe von v' hatten sich bereits in den früheren Versuchen als verhältnissmässig unbedeutende und jedenfalls als derartige erwiesen, dass nicht sie für die bedeutenden Schwankungen der in der 7. Columne aufgeführten Werthe verantwortlich gemacht werden konnten. Es erschien daher von kaum welcher Bedeutung, wenn sowohl die mittlere Temperatur, bei welcher die Sättigung des Serums mit Luft geschah, wie der dabei herrschende Barometerstand etwas andere waren, als in den früheren Versuchen. Während früher $18,6^\circ$, betrug die mittlere Temperatur jetzt $15,0^\circ$; der mittlere Barometerstand war früher 0,7287 Meter, in den neuen Versuchen 0,7339.

Nach allem Früheren musste man schliessen, dass die beträchtlichen Schwankungen im Werthe des gesuchten Quotienten durch andere, als die erwähnten Umstände, bedingt gewesen, und zwar am wahrscheinlichsten durch solche, die zu beherrschen der Versuchsansteller zunächst ausser Stande sei. Man musste schliessen, dass von dem in die Lösung geschüttelten Sauerstoffe, je nach der chemischen Beschaffenheit der ersteren, bald mehr bald weniger zur Oxydation irgend welcher Stoffe verbraucht und damit die Menge des wieder austreibbaren Sauerstoffantheils geändert werde; vielleicht aber auch, dass Aenderungen im Salzgehalte der Lösung hier mit von Einfluss seien.

War diese Vermuthung richtig, so mussten sich bei Versuchen mit zweckmässig verdünntem Serum derartige Schwankungen in der Grösse des austreibbaren Sauerstoffantheils wiederholen; und zwar war es wahrscheinlich, dass dieselben hier noch grösser ausfielen, insofern sie hier nicht, wie bei den Blutversuchen selbst, erst noch durch eine ganze Zahl (siehe Columne 6 und 7 der Tabelle) dividirt zum Vorschein kommen konnten.

Jedenfalls aber war Hoffnung vorhanden, dass sich aus

einer nicht zu kurzen Versuchsreihe ein sehr brauchbarer Mittelwerth m , ergeben würde; der brauchbarste dann, wenn die Zahl der Serumversuche genau gleich gross gemacht würde, wie die Zahl der Versuche mit verdünntem Blute.

Dieser Werth m , abgezogen vom Mittel sämtlicher Zahlen der Columnne 3, musste eine Zahl übrig lassen, die durch das Mittel sämtlicher Werthe von Columnne 2 dividirt, den wahrscheinlichsten Werth des gesuchten Quotienten darstellt.

In nachfolgender Tabelle finden sich die Resultate von 10 Versuchen mit verdünntem Serum zusammengestellt.

Das angewandte Flüssigkeitsvolumen v war wieder — 158,75 Cc.

Versuchs- Nummer.	Gef. Sauer- stoff in Cem.	Gef. Sauerst. in Volumproc.
1.	0,5135	0,3234
2.	0,3979	0,2506
3.	0,3585	0,2258
4.	0,5236	0,3235
5.	0,5658	0,3564
6.	0,6566	0,4136
7.	0,4618	0,2909
8.	0,3425	0,2157
9.	0,5382	0,3390
10.	0,3896	0,2454

m ist demnach = 0,4748 Cem; ¹⁾ das Mittel der Volumprocente = 0,2984. Das Mittel aller Werthe für Hb in der früheren Tabelle betrug 4,0925; dasjenige aller Werthe für V 5,2228; also ist nunmehr

$$\frac{V - m}{Hb} = \frac{5,2228 - 0,4748}{4,0925} = 1,16.$$

¹⁾ Unter den gleichen Bedingungen absorbirt ein ebenso grosses Volumen Wasser 0,7299 Cc. Sauerstoff. — Stickstoff fand ich im Mittel 1,840 Cc.; Wasser soll geben 1,361. — Vergl. die Schlussbemerkung zu meiner Abhandlung in Wiedemanns Annalen, I, 636. —

Diese Zahl differirt, wie man sieht, wenig von Dyb-kowsky's erstem Resultate 1,18; dagegen mehr von derjenigen Zahl, welche Preyer als die theoretisch verlangte bezeichnet, und von welcher ich selbst überzeugt bin, dass sie der Wahrheit sehr nahe kommt, nämlich der Zahl 1,27. Beim Aufspüren der Ursachen, durch welche diese letztere Differenz bedingt sein mag, hat man sich vor Allem an die Principien zu erinnern, auf welchen der experimentelle Theil vorliegender Untersuchung basirt ist.

Die Differenz kann entweder durch die quantitative Bestimmungsweise des Hämoglobins oder durch die für die Gewinnung des Sauerstoffgases angewandte Methode bedingt worden sein. Gegen das Princip der auf die Photometrie des Absorptionsspectrum's gegründeten quantitativen Analyse dürfte sich bei der genauen Uebereinstimmung der damit erzielten Werthe wohl kaum noch ein Einwand erheben lassen; dagegen liegt die Vermuthung nahe, das «Absorptionsverhältniss» des Oxyhämoglobins sei von mir zu hoch bestimmt worden, insofern in meinen Versuchen unter trockenem Hämoglobin ein solches verstanden ist, welches nur bei 0° im nicht ausgepumpten Raume bis zu eingetretener Gleichheit des Gewichts über Schwefelsäure gehalten worden, während sich die Resultate anderer Forscher auf ein Präparat beziehen, das man hinterdrein noch über 100° getrocknet hatte. So verlieren z. B. nach Hoppe-Seyler¹⁾ die „mit der Luftpumpe getrockneten“ Krystalle des Hundehämoglobins durch Erwärmen über 100° noch 3—4% Krystallwasser. Wollte man also den von mir gefundenen Werth 1,16 auf so scharf getrocknetes Hämoglobin beziehen, so brauchte man ihn nur — den Krystallwassergehalt meines Hämoglobins = 4% gesetzt — durch den Bruch 0,96 zu dividiren und erhielte dann das Resultat 1,21.

Was die zur Gewinnung des Sauerstoffgases benutzte Methode angeht, so möge hier zunächst an einige Erfahrungen erinnert werden, welche die Gewinnung von Sauerstoffgas aus wässrigen Flüssigkeiten überhaupt betreffen.

¹⁾ Med. chem. Untersuchungen, 3. Heft, S. 370. Berlin 1868.

Als Bunsen mit Hilfe seines bekannten Absorptometers die Absorptionscoefficienten des Sauerstoffs für Wasser für verschiedene innerhalb 0° und 20° liegende Temperaturen bestimmen wollte, erhielt er schon in einigen bei gleicher Temperatur angestellten Versuchen keine genügend übereinstimmenden Resultate; im Gegentheile konnte er bei diesen nur ein Wachsen des gesuchten Coefficienten constatiren; und es stellte sich am Ende heraus, dass die Schuld davon einer Oxydation etwaiger das Quecksilber verunreinigender, fremder Metalle beizumessen sei. ¹⁾ Bunsen musste dann bekanntlich zu einem ganz andern Verfahren schreiten; er musste mit Luft gesättigtes Wasser durch heftiges Auskochen von allem Gase befreien und aus dem Resultate der Gasanalyse unter Benutzung des bekannten Absorptionscoefficienten des Stickstoffs denjenigen des Sauerstoffs berechnen. Bei Mittheilung dieser Versuche deutet er darauf hin, mit welcher Sorgfalt zu dergleichen Experimenten bestimmtes Wasser zu reinigen sei, und betont namentlich, es dürfe nicht aus einer Blase destillirt sein, in der jemals zuvor organische Substanzen behandelt worden seien. Die Spuren flüchtiger organischer Körper, welche es in einem solchen Falle aufnehmen, reichen hin, einen Theil des absorbirten Sauerstoffs in Kohlensäure zu verwandeln.

Vergleicht man nun mit diesen strengen Bedingungen für die Ausführbarkeit exacter absorptometrischer Bestimmungen (soweit sie das Verhalten des Sauerstoffs gegen Wasser betreffen) die Verhältnisse, unter welchen der mit Blut oder Serum Arbeitende zu operiren gezwungen ist, so begreift man von vornherein das Illusorische des Bemühens, für den Sauerstoffgehalt von dergleichen mit Luft geschüttelten Flüssigkeiten Werthe zu erhalten, die in verschiedenen Versuchen genau übereinstimmen.

Mit dem Absorptometer, wie dasselbe nun auch construirt sein möge, wird man für Sauerstoff gegenüber der-

¹⁾ Gasometrische Methoden. I. Aufl. 163, 164.

artigen Flüssigkeiten jederzeit zu grosse, ¹⁾ mit dem blossen Vacuum dagegen wohl immer zu kleine, in beiden Fällen gewiss immer schwankende Werthe erhalten. Hinsichtlich der Wirkung des letzteren ist aber noch eine besondere Schwierigkeit zu erwähnen.

In einer Reihe von Versuchen, welche zunächst nur die Prüfung einer kleinen Quecksilberpumpe auf ihre Zuverlässigkeit zur Aufgabe hatten, erhielt ich bei Zimmertemperatur aus reinem Wasser, das bei bestimmten, oberhalb 20° liegenden Temperaturen mit Luft gesättigt worden war, Gasmenge, deren Zusammensetzung in nachstehend verzeichneter Weise variierte.

Versuchs- Nummer.	Sauerstoff in Procenten.	Stickstoff in Procenten.	Temperatur.
1.	32.44	67.56	25,0°
2.	30.03	69.97	30,0°
3.	31.08	68.92	—
4.	30.73	69.27	—
5.	31.30	68.70	35,0°
6.	33.44	66.56	—
7.	30.06	69.94	—
8.	30.24	69.76	—
9.	31.76	68.24	—
10.	31.74	68.26	—
11.	32.19	67.81	—
12.	31.45	68.55	—
13.	30.33	69.67	—
14.	30.18	69.82	40,0°
15.	32.23	67.77	—
16.	30.27	69.73	—
17.	27.58	72.42	—
18.	30.24	69.76	—

¹⁾ Im Wasser gelöster Sauerstoff scheint stärker oxydirende Eigenschaften zu besitzen, wie solcher, der von Alkohol absorbiert ist. Diese Bemerkung macht schon Bunsen (Gasometr. Methoden, 1. Aufl. S. 167). Bekannt ist, dass blankes Eisen, mit trockenem Sauerstoffe in Berührung, nicht rostet, auch nicht in gut ausgekochtem Wasser; wohl aber bei Gegenwart von Sauerstoff und Feuchtigkeit zugleich. — Ueber die Vorstellungen, die man sich von dem Zustande des im Wasser gelösten Sauerstoffs bilden kann, siehe Journ. f. pr. Chem. Neue Folge XI, 48.

Anmerkung.

Die Zusammensetzung der von mir durch Auspumpen bei gewöhnlicher Temperatur gewonnenen Luft war also im Mittel folgende:

Sauerstoff = 31,66%

Stickstoff = 68,34%;

während das von Bunsen durch heftiges Auskochen erhaltene Gas bekanntlich aus 34,91% Sauerstoff und 65,09% Stickstoff bestand.

Nun waren die von mir gefundenen Stickgasmengen durchaus nicht fehlerhaft grosse, etwa durch eingedrungene atmosphärische Luft erklärbar; sie gestatteten mir im Gegentheile die genaue Berechnung der Absorptionscoefficienten des Stickstoffs für Wasser für Temperaturen, bis zu welchen Bunsen's Bestimmungen nicht reichen. Also kann der geringere Procentgehalt an Sauerstoff in meinen Versuchen nur daher rühren, dass in der That das blosse Vacuum bei gewöhnlicher Temperatur durchaus nicht im Stande ist, dem Wasser allen Sauerstoff zu entziehen.

Aber auch eine Temperaturerhöhung bis 40°, wie man sie bei Blutauspumpungen zu verwenden pflegt, ist hierzu nicht ausreichend; man muss kochen; und zwar ist es, wie auch Baumert in einer berühmt gewordenen Untersuchung¹⁾ bemerkt, immer rathsam, „das Kochen noch etwas länger fortzusetzen, weil das Wasser den letzten Antheil Luft und zumal den Sauerstoff mit grosser Beharrlichkeit zurückhält.“

Von welchem Einflusse auf die Zusammensetzung des aus Wasser ausgetriebenen Gasgemenges die zum Austreiben angewandte Temperatur ist, das geht aber namentlich aus Versuchen hervor, welche bereits am Anfange dieses Jahrhunderts A. v. Humboldt und Gay-Lussac in ihren „Untersuchungen über die eudiometrischen Mittel und über das Verhältniss der wesentlichen Bestandtheile der Atmosphäre“²⁾

¹⁾ Chemische Untersuchungen über die Respiration des Schaumpeizgers; Liebig's Annalen LXXXVIII. Seite 5.

²⁾ Zuerst erschienen im Journ. d. Phys. T. LX. An. VIII. (1805) p. 129—167; deutsch abgedruckt in A. v. Humboldt's Kleinere Schriften. Stuttgart und Tübingen 1853. Bd. I. 315—370.

veröffentlicht haben. Um die Stärke der Verwandtschaft zu erfahren, durch welche der im Wasser aufgelöste Sauerstoff bei verschiedenen Temperaturen von ersterem zurückgehalten wird, erhitzen Humboldt und Gay-Lussac das eine Mal Seine-Wasser, ein anderes Mal Schneewasser langsam bis zu seinem Siedepunkte, und fingen die nach einander übergehenden, aber ungleichen Luftportionen gesondert auf. Die Analyse der einzelnen Portionen zeigte, dass sich zu Anfang eine Luft aus dem Wasser scheidet, deren Sauerstoffgehalt nur wenig grösser als derjenige der atmosphärischen Luft ist, dass aber die Sauerstoffentwicklung mit steigender Temperatur zunimmt und dass die letzten von der Wärme ausgetriebenen Gastheile die sauerstoffreichsten sind. Sie schlossen daraus folgerecht, dass eine Temperaturerhöhung die anziehende Wirkung des Wassers auf den Sauerstoff weniger schwächt als die auf den Stickstoff.

Ich erwähne alle diese Erfahrungen nur, um von Neuem zu zeigen, wie unzulänglich für exacte Messungen der vom Wasser oder von wässrigen Lösungen absorbirten Sauerstoffmengen das blosse Vacuum ist, und möchte ferner darauf hindeuten, wie sehr diese Schwierigkeiten noch wachsen mögen, wenn sich zur blossen Anziehung des Wassers die anziehenden Kräfte addiren, welche gelöste organische Materien auf den Sauerstoff ausüben.¹⁾

In meinen eigenen oben beschriebenen Versuchen waren die Vortheile von zweierlei Verfahren zugleich benutzt. Allerdings die höhere Temperatur war gerade absichtlich und sorgfältig vermieden; allein dafür war die saugende Wirkung des trocknen Vacuums wenigstens durch die unmittelbar vorhergegangene verdrängende Wirkung des Kohlenoxyds auf's Kräftigste unterstützt. Und wenn nun auch nicht

¹⁾ Dass dagegen Zusatz von Kochsalz zum Wasser die Menge der absorbirbaren atmosphärischen Gase bedeutend herabsetzt, haben H. und G.-L. ebenfalls bereits (a. a. O. S. 361) beobachtet. — Vergl. auch Mackenzie: Ueber die Absorption der Gase durch Salzlösungen in Wieden. Ann. I. 451; ferner Setchenow, Naturforscher Bd. 9 S. 339

erwiesen ist, dass sich auf solche Weise der sämmtliche von der Flüssigkeit als solcher absorbirte Sauerstoff herausholen lässt, so verdient doch der von mir erlangte Endwerth für den gesuchten Quotienten um desswillen Vertrauen, weil es bei der völligen Gleichheit des Verfahrens, der Apparate und Flüssigkeitsvolumina wahrscheinlich ist, dass ein gleich grosses Deficit, wie dassjenige, mit welchem in dem Bruche $\frac{V - m}{Hb}$ die Grösse V behaftet ist, auch dem Werthe von m anhaften werde; so dass also der Werth des ganzen Zählers überhaupt gar keine Aenderung erleiden dürfte.

Man ermisst am Ende leicht, von wie grossem Werthe die in Rede stehende Constante zugleich für die Ermittlung des Sauerstoffgehaltes verschiedener Blutarten zu werden verspricht. Denn ist sie einmal sicher festgestellt, so genügt schon die blosser Bestimmung des in einem gegebenen Falle vorhandenen Oxyhämoglobins mit dem Spectrophotometer, um den Beobachter sogleich auch wissen zu lassen, wie viel locker gebundener Sauerstoff im untersuchten Blute verfügbar ist. Es ist somit gegründete Aussicht vorhanden, dass die spectrophotometrische Methode mit Hülfe unsrer Constante die mühsamen Sauerstoffbestimmungen mittels Quecksilberpumpe und Analyse in Zukunft entbehrlich machen wird. Die Richtigkeit dieses Ausspruchs experimentell zu erweisen, soll die Aufgabe einer nächsten Untersuchung sein.

Tübingen, im Februar 1878.