

## Beiträge zur quantitativen Spectralanalyse, insbesondere zu derjenigen des Blutes.

Von Carl von Noorden, Stud. med.

(Aus dem Laboratorium des Prof. Hüfner in Tübingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 19. November).

In einer Abhandlung,<sup>1)</sup> welche die Ermittlung des Hämoglobin- und Sauerstoffgehaltes vom Blute auf spektrophotometrischem Wege zum Gegenstande hat, nahm Herr Prof. Hüfner die Werthe der zu solchem Verfahren nöthigen optischen Constanten des Oxyhämoglobins,  $A_o$  und  $A_o'$ , als Resultate längerer Versuchsreihen, zu 0,001477 und 0,001110 an. Er that dies aber ausdrücklich nur «vorläufig», weil er voraussah, dass nach Ausarbeitung noch feinerer Methoden, als zuerst zur Anwendung kamen, auch diese Werthe einer noch schärferen Bestimmung fähig sein würden.

Namentlich war es die Concentration der zu solchen Bestimmungen verwendeten Lösungen, welche einer exacteren Feststellung zu allernächst bedürftig schien. Nächst dem war es aber aus früher bezeichneten Gründen auch wünschenswerth, den Begriff der Concentration künftig nur noch in der von Beer und später von von Vierordt gebrauchten Bedeutung zu nehmen; und wenn dabei die Herstellung passender Lösungen nicht auf dem ungenauen Wege der Volumenometrie in Büretten, sondern, wie früher, nur durch Abwägung von Flüssigkeitsmengen auf der chemischen Waage geschehen sollte, so mussten in Zukunft auch alle die Correctionen beachtet werden, welche die physikalische Technik für genauere Wägungen vorschreibt.

Herr Prof. Hüfner forderte mich im letzten Sommer-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift III, 1 ff.

semester auf, eine Neubestimmung der in Rede stehenden Constanten unter Einhaltung der angedeuteten Cautelen und unter seiner Leitung vorzunehmen. Ich bin dieser Aufforderung um so lieber gefolgt, als ich dadurch eine erwünschte Gelegenheit erhielt, mich mit der physiologischen Photometrie und mit den Methoden der quantitativen Spectralanalyse durch praktische Uebung vertraut zu machen.

Ehe ich die Versuche selbst und ihre Resultate mittheile, schicke ich Einiges über den Apparat voraus, dessen ich mich bei meinen photometrischen Messungen bedienen durfte.

### § 1.

#### Ueber eine am Hüfner'schen Spectrophotometer angebrachte Vereinfachung.

In Karl's Repertorium der Physik<sup>1)</sup> hat Herr Professor Hüfner bereits eine einfache Vorrichtung beschrieben, welche bestimmt ist, das Skalenrohr und die 2. Lichtquelle bei Spectralapparaten künftig überflüssig zu machen. Sie besteht im Wesentlichen aus einem in horizontaler Lage befestigten Kreisquadranten, über dessen Gradtheilung ein radiär gestellter Zeiger hin und her läuft, der seinerseits bei der Drehung des Fernrohres um die Hauptaxe des Apparates durch ein Hebelwerk in Bewegung gesetzt wird. Befindet sich nun im Ocularrohre ein Fadenkreuz, so lassen sich auf der horizontalen Skala leicht alle die Orte feststellen und ein für alle Male auftragen, die von der Spitze oder einer sonstigen Marke des Zeigers getroffen werden, sobald für den durch das Rohr blickenden Beobachter eine bestimmte Fraunhofer'sche Linie mit dem vertikalen Theile des Kreuzes zusammenfällt. Man erhält so eine sehr bequeme Orientirungsskala; denn der Stand des Zeigers an einem Orte der unverrückbar befestigten Kreistheilung gibt jederzeit die Stelle des Spectrums an, die sich augenblicklich in der Mitte des Gesichtsfeldes befindet.

Für die Zwecke der Orientirung bei der Spectrophotometrie bedurfte es aber einer besonderen Anpassung der

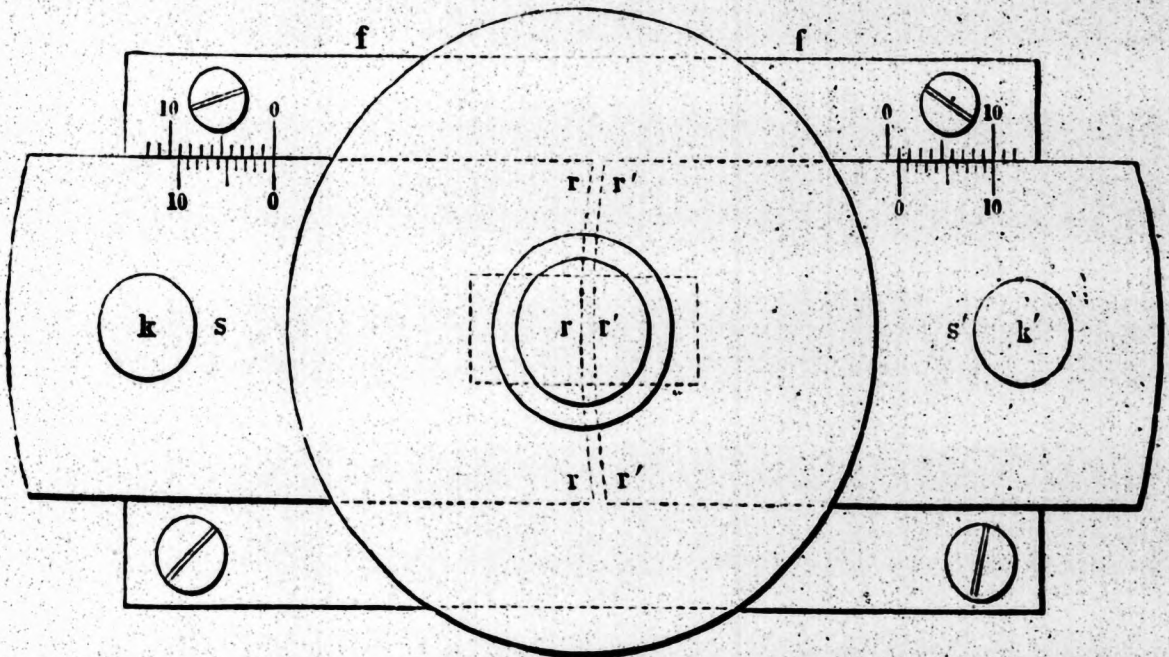
<sup>1)</sup> Repertorium f. Experimentalphysik 15, S. 116—118.



angedeuteten Vorrichtung an den Bau der gebräuchlichen Spectrophotometer.

In der Ebene des Fadenkreuzes liegen nämlich bei jedem Spectrophotometer die abblendenden Schieber. Die Erhaltung des ersteren neben den Schiebern wäre nicht möglich; sie ist aber auch nicht nöthig, denn wenn man nur einen der Schieber in einer solchen Lage fixirt, dass sein innerer Rand scharf die Mitte des Gesichtsfeldes berührt, so kann letzterer recht gut die Stelle des senkrechten Fadens vertreten. Wir wählen zu diesem Behufe ein für alle Male den inneren Rand des linken Schiebers, um den rechten Schieber stets zu beliebiger Einstellung mit der rechten Hand verfügbar zu haben.

Die Breite des aus dem Spectrum herausgeschnittenen farbigen Streifens, resp. Absorptionsstreifens, zu messen, gestattet eine sehr feine Theilung, die sowohl am oberen Rande der Schieber wie an deren oberer Führung (siehe beistehende Figur I.) angebracht ist. Die Theilung der Schieber ist aber eine andere als die zweitgenannte; sie verhält sich zu dieser wie ein Nonius zur Haupttheilung.



Figur I.

Fallen die Nullpunkte der Nonien mit den Nullpunkten der bezüglichen Haupttheilungen zusammen, so berühren sich beide Schieberränder,  $r$  und  $r'$ , in der Mitte des Gesichtsfeldes.

feldes und ist das letztere dunkel; hat man aber den rechten Schieber,  $s'$ , so weit nach rechts verschoben und in einer solchen Stellung durch den Knopf  $k'$  befestigt, dass der Nullpunkt seines Nonius mit einem beliebigen, z. B. dem ersten, Theilstriche (vom O-punkte der Theilung an gerechnet) zusammenfällt, so ergibt die Differenz dieser Nullpunkte, — wenn unterdess die Einstellung des linken Schiebers, wie oben verlangt, unverrückt dieselbe geblieben, — die wirkliche Breite des Ausschnittes unmittelbar: um aber zu erfahren, einen wie grossen Streifen des Spectrums dieser Ausschnitt einschliesst, hat man erst die Feststellung der Beziehung nöthig, welche zwischen den Werthen der Theilung am Schieber und denjenigen der horizontalen Skala besteht. Auch dies geschieht vor jeglichem Gebrauche des Apparates in folgender Weise ein für alle Male.

Man verrücke auf einige Zeit den linken Schieber aus seiner Normalstellung nach links und fixire dafür den rechten Schieber so, dass die Nullpunkte auf seiner Seite zusammenfallen, dass also sein innerer Rand genau in die Mitte des Gesichtsfeldes trifft. Alsdann drehe man das Fernrohr in eine solche Lage, dass der bezeichnete Rand sich scharf mit einer bestimmten Fraunhofer'schen Linie, z. B. mit E, deckt, und merke sich genau den Stand, den der Zeiger jetzt auf der horizontalen Skala einnimmt.

Derselbe befinde sich z. B. — wie bei dem von mir benutzten Instrumente — bei  $17,59^1$ ). Hierauf rücke man den rechten Schieber so weit nach rechts, bis der Nullpunkt seines Nonius mit Theilstrich 1 der Führungstheilung zusammenfällt, und stelle dann das Fernrohr abermals so ein, dass jene selbe Fraunhofer'sche Linie E vom inneren Rande des gleichen Schiebers genau getroffen wird. Jetzt wird, da der Schieberrand das Sehfeld nicht mehr in der Mitte, sondern etwas rechts davon schneidet, der Zeiger nicht mehr auf die frühere, sondern auf eine andere Stelle der horizon-

<sup>1)</sup> Um diesen Ort mit möglichster Schärfe festzustellen, mache man eine Reihe solcher Beobachtungen nach einander und nehme aus der Gesamtzahl aller einzelnen Werthe, die man erhielt, das Mittel.



talen Skala, und zwar etwas rechts davon deuten, z. B. auf die Zahl 16,09; und wir werden also daraus erfahren, dass ein Theilstrich der Führungstheilung genau  $17,59 - 16,09 = 1,5$  Graden der horizontalen Skala äquivalent ist. Hatten wir nun früher vielleicht gefunden, dass die Mitte des Fraunhofer'schen Linienpaares D bei 10,49 auf der horizontalen Skala liegt, so dass die Differenz zwischen D und E 7,10 Grade dieser Skala beträgt, so ergibt sich die Umrechnung des Werthes von 1,5 in das bekannte Fraunhofer'sche Maass für jene Spectralregion aus der einfachen Proportion:

$$7,10 : 100 = 1,5 : x,$$

wonach  $x = 21,13$ . D. h. also: Die wirkliche Breite des Ausschnittes, = einem Theilstriche der Führungstheilung, entspricht zwischen D und E einer Breite von 21,13 Fraunhofer.

Wenn daher im Folgenden immer in den Gegenden

$$\begin{array}{l} D \ 32 \ E \ - \ D \ 53 \ E \\ \text{und } D \ 63 \ E \ - \ D \ 84 \ E \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} D \ 32 \ E \ - \ D \ 53 \ E \\ \text{und } D \ 63 \ E \ - \ D \ 84 \ E \end{array}} \right\} \text{Fraunhofer}$$

untersucht wurde, so stand dabei der Zeiger — bezogen auf die Normalstellung des linken Schiebers — an meinem Instrumente

$$\begin{array}{l} \text{im 1. Falle bei } 12,75 \\ \text{» 2. » } 14,86 \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{im 1. Falle bei } 12,75 \\ \text{» 2. » } 14,86 \end{array}} \right\} \text{der horizontalen Skala.}$$

## § 2.

### Ueber die Feststellung der Concentration einer Normallösung.

Um die Concentration einer Normallösung festzustellen, bediente sich Herr Prof. Hüfner<sup>1)</sup> einer Anzahl feuchter Bröckchen, die aus einem Krystallkuchen herausgenommen, gewogen und gelöst wurden, während der Trockenrückstand jenes grossen Kuchens besonders ermittelt und aus diesem auf den Trockenrückstand jedes einzelnen Bröckchens geschlossen ward. Dieses Verfahren beruhte auf der Voraussetzung, dass die Bröckchen denselben oder wenigstens einen sehr annähernd gleichen Feuchtigkeitsgrad besässen, wie der Kuchen, und die Wahrscheinlichkeit dieser Voraussetzung

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift I, 320.

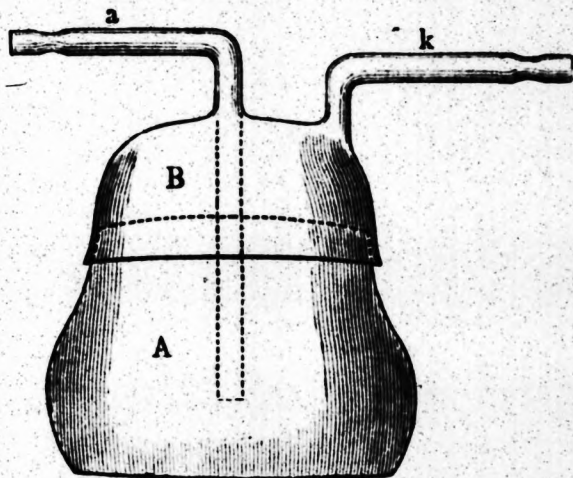
musste sich um so mehr der Gewissheit nähern, je mehr und an je verschiedenen Stellen die einzelnen Bröckchen vom ganzen Kuchen getrennt wurden. Herr Prof. Hüfner schlug mir vor, dieses Verfahren ganz zu verlassen und lieber den Versuch zu machen, die Normalflüssigkeiten durch Abwägen von kleinen Portionen einer frisch bereiteten concentrirten, aber klar filtrirten, Lösung und durch nachherige Verdünnung der einzelnen herzustellen. Der Rest der concentrirten Lösung sollte über Schwefelsäure eingetrocknet und zum Schlusse bei einer Temperatur von  $112-115^{\circ}$  bis auf gleichbleibendes Gewicht gebracht werden.

Auch diesem Verfahren stellten sich indessen im Anfange einige Schwierigkeiten entgegen. Zwar ging die Eintrocknung der Lösung in offenen Glasschaalen, im ausgepumpten Raume, über Schwefelsäure und bei niedriger Temperatur, hinlänglich rasch und ohne Schaden vor sich; allein die weiteren Operationen, so die Herausnahme eines Theils der schwefelsäure-trockenen, gewogenen Masse, seine Ueberführung in den für die Trocknung über  $100^{\circ}$  geeigneten Apparat, vor Allem aber auch die mehrfachen Wägungen, machten allerlei Zeitaufwand nothwendig und so waren bei der bedeutenden Hygroskopicität des trockenen Materials und bei der Anwendung offener Schaalen unliebsame Gewichtsveränderungen unvermeidlich, — Aenderungen, die für das Endresultat um so gefährlicher werden mussten, als überhaupt immer nur kleine Gewichtsmengen der Substanz in Arbeit kommen konnten. Es galt somit einen einfachen Apparat zu ersinnen, in welchem nach einander sowohl die Eintrocknung der Flüssigkeit über Schwefelsäure wie die weitere Trocknung des Rückstandes im heissen Luftstrome vorgenommen werden konnte. Der Apparat musste bis 30 Cc. der Flüssigkeit fassen und dabei doch so leicht bleiben, dass eine genaue Wägung des Ganzen auf der chemischen Waage noch möglich war.

Allen diesen Anforderungen genügte am Ende folgende durch nachstehende Fig. II. versinnlichte Vorrichtung. A ist ein sehr dünnwandiges Glasgefäss mit flachem Boden, wel-



ches sich nach oben nur so wenig verjüngt, dass seine Oeffnung nicht unter 5 cm im Durchmesser besitzt, während der



Figur II.

grösste Durchmesser seines Bauches etwa 7 und seine Höhe bis zum Rande der Oeffnung circa 4 cm misst. Auf das Ganze ist die leichte Kappe B aufgeschliffen, welche zwei rechtwinklig umgebogene Röhren a und k trägt, deren eines, a, durch die Kappe hindurchgeht und

mit offener Mündung bis weit in den Bauch von A hinabreicht. Die offenen äusseren Enden dieser Röhren tragen einen Kautschukverschluss.

Der Gebrauch des kleinen Apparates ist jetzt leicht verständlich. Das Ganze wird zuerst leer und nach Beschickung von A mit der Lösung zum zweiten Male gewogen. Hierauf wird die Kappe B abgenommen, A unter eine Luftpumpenglocke und über Schwefelsäure gestellt und B sammt allem Zubehör daneben. Wenn nach 6—8 Tagen die Flüssigkeit vollkommen verdunstet ist, setzt man den Apparat abermals zusammen, befestigt ihn in einem Schwefelsäurebade und bringt ihn mit einem Wasserstoffentwicklungsapparate derartig in Verbindung, dass das vorher getrocknete Gas bei a eintreten und durch k wieder entweichen kann.

Man erhitzt nun die Schwefelsäure allmählich bis  $115^{\circ}$ ; setzt die Trocknung bei dieser Temperatur etwa zwei Stunden lang fort und wägt am Ende; — letzteres natürlich immer erst dann, nachdem der Apparat zuvor etwa eine halbe Stunde lang, rechts und links unverschlossen, über Schwefelsäure gestanden und seinen Inhalt an gasförmigem Wasserstoff mit trockener atmosphärischer Luft vertauscht hatte. Dieselbe Operation wurde wiederholt, bis die gefundenen Gewichte bis auf die gewöhnlichen Wägungsfehler übereinstimmten.

Wie Anfangs bemerkt, sollte die Neubestimmung der fraglichen optischen Constanten dieses Mal mit Rücksicht auf die von Beer gegebene Definition des Begriffs Concentration durchgeführt, unter «Concentration» also die in der Volumeinheit einer Flüssigkeit enthaltene Gewichtsmenge des gelösten Körpers verstanden werden.

Bedeute  $v$  das angewandte Flüssigkeitsvolumen,  $\gamma'$  das Gewicht des darin enthaltenen Farbstoffs und  $c$  die Concentration, so sollte also die Gleichung gelten:

$$c = \frac{\gamma'}{v}. \quad (1)$$

Da nun in allen unseren Versuchen zur Abmessung bestimmter Flüssigkeitsquanta nicht das Messgefäß, sondern die Waage benutzt wurde, so ergab sich der Weg zur Aufindung der Concentration von jeder einzelnen der verdünnten Lösungen aus folgender sehr einfachen Betrachtung.

Bedeute

$g$  das Gewicht der einzutrocknenden Lösung,

$g'$  den Trockenrückstand von  $g$ ,

$\gamma$  das Gewicht der zum Zwecke der Verdünnung abgewogenen Lösung,

$Q$  das Gesamtgewicht von  $\gamma$  und dem zugefügten Verdünnungswasser,

$\gamma'$  den Trockenrückstand von  $\gamma$ ,

$s$  das spezifische Gewicht der verdünnten Lösung,

$c$  deren Concentration, so gilt zunächst die Gleichung:

$$\gamma' = \frac{\gamma g'}{g}. \quad (2)$$

Dieser Werth, eingesetzt in (1), gibt aber:

$$c = \frac{\gamma g'}{g v}; \quad (3)$$

und da nun  $v = \frac{\gamma}{s}$ , oder, insofern in unseren Fällen  $\gamma$  immer gleichbedeutend mit  $Q$ , auch  $v = \frac{Q}{s}$ , so erfährt man  $c$  aus der Gleichung:

$$c = \frac{\gamma g'}{g} \cdot \frac{s}{Q}. \quad (4)$$



Es sei bemerkt, dass um der Erlangung schärferer Resultate willen alle Wägungen von Flüssigkeiten auf den leeren Raum reducirt wurden. Zugleich muss aber hinzugefügt werden, dass die Berücksichtigung des kleinen specifischen Gewichts sich für die genauere Ermittlung der fraglichen optischen Constanten sehr bald als nutzlos erwies, insofern sein Einfluss sich nur durch eine geringe Erhöhung der gesuchten Werthe in der sechsten Decimale bemerkbar machte, eine Aenderung, die gegen bedeutend grössere, durch andere, unvermeidliche Beobachtungsfehler bedingte Schwankungen<sup>1)</sup> jenes Werthes gar nicht in Betracht kommen darf.

### § 3.

Ich gebe im Folgenden zunächst die Resultate einer Anzahl von Versuchen, die mit Oxyhämoglobin aus Hundeblood angestellt wurden. Dasselbe ward für jede einzelne Versuchsreihe besonders dargestellt und jedesmal erst nach dreimaligem Umkrystallisiren als genügend rein und für die photometrische Untersuchung brauchbar erachtet<sup>2)</sup>. Die Reste alkoholisch-wässriger Lösung, aus welcher sich die Massen makroskopischer Krystalle abgesetzt hatten, wurden von den letzteren auf einem sehr feinen leinenen Seihetuche mit eiskaltem Wasser abgespült, ein Theil des dicken Krystallbrües hierauf unter Schütteln in mässig kaltem Wasser gelöst, die Lösung rasch filtrirt und in die verschiedenen Gefässe zum Abwägen vertheilt. Zuletzt, nach Beendigung der nothwendigen Wägungen, erhielten die für die photometrische Unter-

<sup>1)</sup> Siehe hierüber weiter unten, S. 29, ff.

<sup>2)</sup> Für die völlige Reinheit dieser Krystalle geben sowohl die spectralanalytische Untersuchung ihrer Lösungen, wie ein paar Stickstoffbestimmungen von dem auf die oben beschriebene Weise erhaltenen Trockenrückstande genügende Garantie. Zwei Verbrennungen mit chromsaurem Blei, die Herr Prof. Hüfner selbst ausführte, lieferten die eine 16,50, die andere 16,43%, im Mittel also beide 16,47% Stickstoff, gegenüber 16,25, dem Mittel zahlreicher früherer Analysen; (S. Preyer, die Blutkrystalle. Jena 1871, S. 65). Ueberlegt man, dass Hüfner's Zahlen nach Dumas Verfahren, die früheren nach demjenigen Will-Varrentrapp's gewonnen sind, so darf das geringe Plus in den ersten nicht befremden.

suchung bestimmten, durch genügende Wassermengen verdünnten, Portionen jede noch den Zusatz einiger Körnchen wasserfreien kohlensauren Natrons, theils zum Zwecke möglicher Aufhellung, theils zur Erreichung grösserer Haltbarkeit der Lösungen.

Wie in Herrn Prof. Hüfner's eigenen Versuchen<sup>1)</sup> bedeutet in nachfolgender Tabelle:

c die Concentration der photometrisch untersuchten Flüssigkeit,

$\epsilon_0$	den Extinctionscoefficienten,	}	für Region D 32 E — D 53 E,
$A_0$	das Absorptionsverhältniss,		
$\epsilon_0'$	den Extinctionscoefficienten,	}	für Region D 63 E — D 84 E <sup>2)</sup> .
$A_0'$	das Absorptionsverhältniss,		

<sup>1)</sup> Siehe diese Zeitschrift 3, S. 5.

<sup>2)</sup> Die geringe Differenz zwischen der Breite der von Prof. Hüfner und derjenigen der von mir untersuchten Spectralregion hängt mit der oben beschriebenen, an seinem Spectralapparate angebrachten Veränderung zusammen; sie ist übrigens von so minimaler Bedeutung, dass sie nicht hindern darf, die von uns beiden gewählten Spectralregionen als identische zu betrachten.



Tabelle I.

Nr. der Ver- suchs- reihe.	c	$\varepsilon_0$	$\varepsilon_0'$	A <sub>0</sub>	A <sub>0</sub> '	Mittelwerthe für A <sub>0</sub>	Mittelwerthe für A <sub>0</sub> '	Beobachter.
I.	0,0005696	0,42066	0,54956	0,001354	0,001036	0,001309	0,000995	Hüfner.
8. Jan.	0,0004310	0,34090	0,45190	0,001264	0,000954			
II.	0,0012190	0,89197	1,18040	0,001368	0,001033	0,001303	0,000992	v. Noorden.
9. Juni.	0,0006532	0,52850	0,68830	0,001238	0,000950			
III.	0,0010860	0,79802	1,07644	0,001361	0,001009	0,001340	0,001010	v. Noorden.
8. Juli.	0,0008716	0,63988	0,84044	0,001362	0,001037			
	0,0007465	0,57548	0,75848	0,001297	0,000984			
IV.	0,0009057	0,64548	0,85036	0,001403	0,001065	0,001304	0,000991	v. Noorden.
11. Juli.	0,0005918	0,47138	0,61666	0,001256	0,000960			
	0,0005136	0,40980	0,54156	0,001254	0,000948			
V.	0,0012040	0,83860	1,14256	0,001436	0,001054	0,001363	0,001013	v. Noorden.
15. Juli.	0,0007284	0,54634	0,73310	0,001333	0,000994			
	0,0005841	0,44276	0,58900	0,001319	0,000992			
Endresultate:						0,001324	0,001000	

Ehe ich die in vorliegender Tabelle zusammengestellten Resultate einer eingehenden Besprechung unterwerfe, mögen zuvor noch zwei kleine Tabellen über die Ergebnisse meiner mit Ratten- und Meerschweinchenhämoglobin angestellten Versuche Platz finden. Da es wünschenswerth war, die bezüglichen optischen Constanten auch für die Hämoglobine einiger weiterer Thiere festzustellen, mir aber für die ganze Untersuchung nur das Sommersemester zur Verfügung stand, so war ich genöthigt, mich nur an solche Thiere zu halten, deren Blutfarbstoff ohne besonderen Zwang, vielmehr leicht und rasch, namentlich ohne hohe Kältegrade, krystallisirt, und die selber jeden Augenblick in genügender Menge zu haben sind.

Pferdeblut war in Tübingen gerade nicht zu beschaffen. Ich musste daher zu Ratten- und Meerschweinchenblut greifen. Von diesen beiden erwies sich aber das Rattenblut als für den Sommer ganz vorzüglich geeignet. Wenn man die Körperchen dieser Blutart erst durch eine 1,5procentige Kochsalzlösung zur Senkung gebracht, alsdann die überstehende Flüssigkeit entfernt und die Körperchen für sich unter schwachem Erwärmen in destillirtem Wasser gelöst hat, so kann man kaum rasch genug filtriren: so schnell schiessen infolge der geringsten Abkühlung die Krystalle an. Die letzteren sind schöne, hellrothe Prismen, die sich unter dem Mikroskope meist sternförmig gruppirt zeigen. — Das Umkrystallisiren gelingt schwieriger und zwar wegen der äusserst geringen Löslichkeit der Krystalle in reinem Wasser. Die Gebilde der zweiten Krystallisation bestehen aus längeren Nadeln; sie ertheilen der Flüssigkeit beim Umschwenken einen eigenthümlichen Seidenglanz und ihre Farbe ist ein dunkleres Roth als das der früheren.

Für die photometrische Untersuchung benutzte ich nur Lösungen der zuerst ausgeschiedenen, hellrothen, Krystallmassen, nachdem dieselben auf einem sehr feinen Seihefuche möglichst lange mit eiskaltem Wasser gewaschen waren.



Tabelle II.  
Versuche mit Rattenhämoglobin.

Nr. der Versuchsreihe.	c	$\epsilon_0$	$\epsilon_0'$	$\Lambda_0$	$\Lambda_0'$	Mittel von $\Lambda_0$ .	Mittel von $\Lambda_0'$ .
I.	0,0005364	0,36004	0,48534	0,001490	0,001105	0,001472	0,001086
22. Juli.	0,0003725	0,25604	0,34870	0,001455	0,001068		
II.	0,0007310	0,47564	0,63114	0,001537	0,001158	0,001459	0,001088
25. Juli.	0,0003692	0,26730	0,36292	0,001381	0,001017		
III.	0,0005758	0,37788	0,51622	0,001524	0,001115	0,001542	0,001142
29. Juli.	0,0004191	0,26870	0,35804	0,001560	0,001170		
Endresultate:						<b>0,001491</b>	<b>0,001105</b>

Der Blutfarbstoff des Meerschweinchens wurde aus der Lösung der gesenkten Körperchen durch Anwendung von Kälte und Alkoholzusatz gewonnen und 1 mal umkrystallisirt.

Tabelle III.

Nr. der Versuchsreihe.	c	$\epsilon_0$	$\epsilon_0'$	$\Lambda_0$	$\Lambda_0'$	Mittel für $\Lambda_0$ .	Mittel für $\Lambda_0'$ .
1. Aug.	0,0004748	0,33270	0,44884	0,001427	0,001058	0,001395	0,001027
	0,0004414	0,31462	0,43308	0,001403	0,001019		
	0,0006005	0,44308	0,59856	0,001356	0,001003		

## § 4.

An den in Tabelle I. zusammengestellten Versuchsergebnissen fällt zunächst auf, dass die für  $\Lambda_0$  und  $\Lambda_0'$  erlangten Endresultate einen kleineren Werth haben, als die ursprünglich von Prof. Hüfner erhaltenen. Es ist wohl nicht daran zu zweifeln, dass diese Verschiedenheit nur durch die veränderte Methode, die Concentration der Normallösung zu bestimmen, bedingt sein kann. Es ist das um so wahrscheinlicher, als Herr Prof. Hüfner selber in einem vorläufigen Versuche, bei dem die Concentration gleichfalls durch Wägung des Trockenrückstandes einer Lösung ermittelt wurde, kleinere Werthe als nach seinem ersten Verfahren erhielt; — es ist derselbe Versuch, den er mir in Tabelle I. aufzunehmen gestattet hat. —

Allein es ist bemerkenswerth. dass dafür der Quotient  $\frac{A_o'}{A_o}$  von uns beiden so gut wie gleich gefunden ward: denn nach Hüfner's zahlreichen, sowohl an Lösungen des reinen Farbstoffs, wie an Blutlösungen angestellten Versuchen ist derselbe

$$= \frac{1477}{1110} = 1,330, \text{ nach meinen eigenen}$$

$$= \frac{1324}{1000} = 1,324. \text{ Die Differenz beträgt somit nur}$$

0,45 %.

Man sieht ferner, dass die Oxyhämoglobine der Ratte und des Meerschweinchens für  $A_o$  und  $A_o'$  Mittelwerthe geliefert haben, die sich den bezüglichen Mittelwerthen des Oxyhämoglobins vom Hunde sehr auffallend nähern. Und wenn man weiter den Quotienten  $\frac{A_o}{A_o'}$  berechnet, so ergibt sich derselbe

$$\text{für Rattenhämoglobin} \dots \dots = 1,349,$$

$$\text{» Meerschweinchenhämoglobin} = 1,357;$$

beides Werthe, die von den 2 obengenannten, für Hundehämoglobin gefundenen, durchaus nicht mehr abweichen, als die verschiedenen Quotienten, aus denen jene 2 die Mittel darstellen, von einander.

Will man von jener einen Thatsache, der Aehnlichkeit der verschiedenen  $A_o$ , bez.  $A_o'$ , aus, auf den Grad von Gleichartigkeit, der im Baue der 3 verschiedenen Hämoglobine herrschen mag, einen Schluss wagen, so kann es nur der sein, dass ihre Molekulargewichte nahezu gleiche sind. Es liegt aber ferner nahe, zu vermuthen, dass den 3 Hämoglobinen, vielleicht allen, eine und dieselbe färbende Atomgruppe zukomme, welche nicht nur die gleichen Farben, sondern diese auch in gleichem Verhältnisse abzuschwächen im Stande sei; und wenn daher auch der Quotient  $\frac{c}{s} = A$  durch Schwankungen in der Grösse des mit jener Atomgruppe verbundenen nicht färbenden Atomcomplexes kleine Aenderungen erfahren könne, doch der Quotient  $\frac{A_o}{A_o'}$



in allen Fällen derselbe bleiben müsse. In wie weit wir zu dieser letzteren Annahme berechtigt sind, darüber siehe noch einmal die Bemerkungen weiter unten.

### § 5.

Bei Betrachtung obiger Tabellen fällt aber noch etwas anderes auf: eine Erscheinung von zwar mehr optischem Interesse, die aber für unsere ganze Methode, die quantitative Spectralanalyse, nicht ohne Bedeutung ist. Aus Tabelle I namentlich, weniger aus Tabelle II, gar nicht aus III, ersieht man deutlich, dass die Schwankungen, welche die Werthe von  $A_0$  und  $A_0'$  zeigen, in einem nicht zu verkennenden Zusammenhange mit den jedesmaligen Concentrationen stehen, mit denen gearbeitet wurde; und zwar pflegen diese Werthe in jeder einzelnen kleinen Versuchsreihe mit abnehmender Concentration gleichfalls abzunehmen. Diese Beobachtung ist um so bemerkenswerther, als neuerdings Herr Settegast in seiner Inauguraldissertation, betitelt: »Beiträge zur quantitativen Spectralanalyse«<sup>1)</sup> die Mittheilung macht, dass sich bei seinen, mit Lösungen von Chromsäure und chromsauren Salzen, ferner mit Diphenylaminfarbstoff und Uranoxydulsalzlösungen angestellten Versuchen rechts von der D-linie, also im Gelb, Grün, Blau etc., gerade die umgekehrte Erscheinung gezeigt habe, also die Werthe von  $A$  mit abnehmender Concentration der Lösung gewachsen seien. Links von der D-linie beobachtete auch Herr Settegast ein dem von uns an Hämoglobinlösungen gefundenen gleichsinniges Verhalten. Es kann mir nicht in den Sinn kommen, über die Ursachen, welche Herrn Settegast's höchst auffallende Erfahrungen bedingt haben können, hier leichthin eine erklärende Hypothese aufzustellen; jedenfalls bediente sich aber Herr Settegast bei seinen Versuchen eines von dem unsrigen sehr verschiedenen photometrischen Verfahrens: der genannte Beobachter schwächte das hellere Licht durch Verengerung der einen Spalthälfte, während wir mit polarisirtem Lichte arbeiteten und dieses durch Drehung eines Nicols verdunkelten.

<sup>1)</sup> Abgedruckt in Wiedemann's Annalen der Physik und Chemie, Bd. 7, S. 242—271. Siehe namentlich S. 245.

Nur steht freilich der Annahme, dass diess die Ursache unserer verschiedenen Befunde sei, wiederum die Thatsache entgegen, dass auch v. Vierordt bei seinen Bemühungen, das Absorptionsverhältniss des Chromalauns zwischen D 50 E und D 87 E zu bestimmen, also rechts von der D-linie, die gleiche Erscheinung wie wir beobachtet hat.<sup>1)</sup> Was aber auch die Veranlassung von unser beider verschiedenen Beobachtungen sein möge, sei es ein physiologischer, oder sei es ein im verschiedenen Baue unserer Apparate liegender Grund: ausgeschlossen, gerade wegen jenes Widerspruchs, bleibt jedenfalls eine unabhängig vom Auge und dem photometrischen Werkzeuge wirklich bestehende funktionelle Beziehung zwischen der Grösse von  $A$  und den Werthen von  $c$ .<sup>2)</sup>

Wir haben uns desshalb auch erlaubt, sowohl aus den für  $A_0$  wie aus den für  $A_c$  erlangten Zahlenwerthen je das Mittel zu ziehen und diese als Endresultate hinzustellen. Folgende Tabelle IV. gibt noch einmal eine Zusammenstellung der Daten aller Einzelversuche und zwar derartig geordnet, dass der scheinbare Zusammenhang zwischen den Grössen der  $A$  und der Abnahme der Concentration etwas deutlicher hervortritt.

(Tabelle auf nächster Seite.)

Wie die Berechnung der Fehler lehrt, ist der jeweilige wahrscheinliche Fehler des Resultates hinlänglich gering; und zwar ist derjenige für  $A_0$  kleiner als der für  $A_c$ . Der letztere beträgt 0,83, der erstere nur 0,7%; eine Kleinheit, die bei der verhältnissmässig geringen Anzahl von Einzelbestimmungen bemerkenswerth genug ist.

<sup>1)</sup> Die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren und zur quantitativen Analyse; Tübingen, 1873, S. 30.

<sup>2)</sup> Ich werde natürlich über den interessanten Gegenstand weitere Forschungen anstellen, glaube aber einstweilen mit v. Noorden ruhig einen Mittelwerth annehmen zu dürfen, um so mehr, als wir uns bei Bestimmungen des Hämoglobingehaltes von Flüssigkeiten niemals mit der Untersuchung einer einzigen Concentration begnügen, sondern immer erst aus den mit verschiedenen Concentrationen gewonnenen Resultaten das Mittel ziehen.



Tabelle IV.

Nr	c	$A_0$	$A_0'$
1	0,001219	0,001368	0,001033
2	0,001204	0,001436	0,001054
3	0,001086	0,001361	0,001009
4	0,000906	0,001403	0,001065
5	0,000872	0,001362	0,001037
6	0,000747	0,001297	0,000984
7	0,000728	0,001333	0,000994
8	0,000653	0,001238	0,000950
9	0,000592	0,001256	0,000959
10	0,000584	0,001319	0,000992
11	0,000570	0,001354	0,001036
12	0,000514	0,001254	0,000918
13	0,000431	0,001264	0,000955
	Mittel =	0,001324	0,001000
Mittlerer Fehler der Einzelbestimmung	=	+ 0,000062	+ 0,000041
Wahrscheinlicher Fehler der Einzelbestimmung . . . . .	=	+ 0,000042	+ 0,000028
Mittlerer Fehler des Resultates . . . . .	=	+ 0,000017	+ 0,000011
Wahrscheinlicher Fehler des Resultates =	+ 0,000011	+ 0,000007	
Wahrscheinlicher prozentischer Fehler des Resultates . . . . .	=	+ 0,8	+ 0,7

## § 6.

Wenn auch die bisher erlangten Resultate schon für hinreichend genau gelten durften, so war es doch immerhin wichtig, nach den Ursachen zu forschen, welche die Grösse der Abweichung vom Mittel bei der Einzelbestimmung zu bedingen pflegen. Namentlich schien mir eine kurze Untersuchung darüber wünschenswerth, einen wie grossen Einfluss die Empfindlichkeit meines Auges für Intensitätsunterschiede der einzelnen Farben auf die Genauigkeit meiner Bestimmungen von  $A_0$  und  $A_0'$  bei verschiedenen absoluten Helligkeitsgraden auszuüben im Stande sei.

Für den vorliegenden Zweck hatte ich natürlich nicht nöthig, die Unterschiedsempfindlichkeit meines Auges für die Intensität sämtlicher Spectralfarben zu untersuchen; vielmehr brauchte ich mich nur auf die zwei Spectralregionen zu beschränken, die in unserem Falle gerade in Frage kommen: nämlich auf die Gegend D 32 E — D 53 E und D 63 E — D 84 E. Auch konnte ich mich dabei bequem des Spectro-

photometers selber bedienen und als Maass des als Unterschiedsempfindlichkeit bezeichneten Augenvermögens<sup>1)</sup> so gleich den reciproken Werth des mittleren Fehlers betrachten, den man bei Schätzungen der Lichtintensität einer einzelnen Farbe zu begehen pflegt.

Da ich mit dem Hufner'schen Spectrophotometer arbeitete, so bestand hier meine Aufgabe darin, zunächst die Winkelgrösse in Graden oder Minuten zu bestimmen, innerhalb welcher beim Gleichmachen beider Lichtfelder die jeweiligen Einstellungen des Nicols hin und herschwanken. Sei z. B. zwischen D 63 E und D 84 E das obere Gesichtsfeld durch den vorgeschobenen Rauchglaskeil so weit verdunkelt, dass zum Zwecke der Herstellung gleicher Helligkeit oben und unten der Nicol von  $0^\circ$  an genau bis auf  $65^\circ$  gedreht werden müsste, so würde laut der Formel

$$J' = \cos^2 \varphi$$

die nunmehrige Helligkeit einer Lichtintensität entsprechen, die sich zur ursprünglichen wie 0,179 zu 1,0 verhielte. Allein bei den Versuchen, beide Felder wirklich gleich dunkel zu machen, pflegen meine Einstellungen um den wahren Werth von  $65^\circ$  derartig zu schwanken, dass der mittlere Fehler, berechnet aus 10 solchen Einzelversuchen,  $+ 0^\circ 18'$  beträgt.

Das deutet aber auf eine Differenz beider Intensitäten von  $\frac{1}{45}$ <sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Bekanntlich pflegen Ophthalmologen und Physiologen die Grösse der Unterschiedsempfindlichkeit durch einen ächten Bruch auszudrücken; z. B. zu sagen, für rothes Licht habe Jemand die Unterschiedsempfindlichkeit  $\frac{1}{20}$ , für blaues  $\frac{1}{100}$ , wenn derselbe im ersten Falle die Intensität 20 eben noch von der Intensität 21, im zweiten die Intensität 100 eben noch von der Intensität 101 unterscheiden kann. Ich schliesse mich dagegen der rationellen Definition von Prof. Hufner an, wonach nicht der Bruchtheil selbst, der den Reizunterschied darstellt, sondern vielmehr dessen reciproker Werth als Maass jenes Vermögens zu bezeichnen ist. (Siehe Hufner, Ueber quantitative Spectralanalyse und ein neues Spectrophotometer, Kolbe's Journal 16, 297).

<sup>2)</sup> Die Berechnung ist einfach folgende: Wenn  $J'$  bei  $65^\circ = 0,179$ , so ist es bei  $65^\circ 18' = 0,175$ . Der Intensitätsunterschied beträgt also

$$\frac{4}{179} = \frac{1}{45}$$



und diese sagt also aus, dass mein Auge bei jenem Helligkeitsgrade die Intensität 44 eben nicht mehr von der Intensität 45 unterscheiden kann. Freilich erfährt man auf solche Weise nicht so direkt den Grad seiner «Unterschiedsempfindlichkeit», als vielmehr denjenigen seiner «Unterschiedsunempfindlichkeit»; allein immerhin lernt man doch einen Grenzwert kennen, von welchem dann jener gesuchte Werth (der Grad der Unterschiedsempfindlichkeit) gewiss nur um ein sehr wenig verschieden ist.

In folgenden zwei Tabellen sind zunächst meine direkt hierauf bezüglichen Versuchsergebnisse zusammengestellt. Columne 1 jeder Tabelle enthält die Gegenden des Quadranten, wo die jeweiligen Nicoleinstellungen stattfanden, Columne 2 die zugehörigen Lichtintensitäten, Columne 3 die mittleren Einstellungsfehler, aus je 10 Versuchen in Minuten berechnet, Columne 4 die daraus abgeleiteten Werthe der Unterschiedsempfindlichkeit und Columne 5 die Zahlengrößen, um welche die Mittelwerthe von  $A_0$  und  $A_0'$  durch jene Einstellungsfehler verändert werden.

Tabelle V.  
D 32 E — D 53 E.

Winkel.	Zugehörige Intensität.	Mittlerer Fehler in Minuten.	Unterschiedsempfindlichkeit.	Beeinflussung von $A_0$ .
66—72°	0,165—0,095	+ 0° 18'	36	+ 0,000018
56—66°	0,313—0,165	+ 0° 15'	71	+ 0,000014
52—56°	0,379—0,313	+ 0° 16'	78	+ 0,000015
42—52°	0,552—0,379	+ 0° 18'	89	+ 0,000021

Tabelle VI.  
D 63 E — D 84 E.

Winkel.	Zugehörige Intensität.	Mittlerer Fehler in Minuten.	Unterschiedsempfindlichkeit.	Beeinflussung von $A_0'$ .
75—86°	0,067—0,005	+ 0° 15'	21	+ 0,000012
64—75°	0,192—0,067	+ 0° 15'	54	+ 0,000011
55—64°	0,329—0,192	+ 0° 18'	55	+ 0,000012
50—55°	0,413—0,329	+ 0° 18'	73	+ 0,000014
44—50°	0,517—0,413	+ 0° 24'	66	+ 0,000021

Wie man aus beiden Tabellen ersieht, wächst meine Unterschiedsempfindlichkeit mit Zunahme der absoluten Intensität, und zwar ebenso für grünes wie für gelbes Licht;<sup>1)</sup> und ich befinde mich somit in gewisser Uebereinstimmung mit H. Aubert, der aus seinen eigenen Versuchen (siehe seine Physiologie der Netzhaut, S. 56; ferner seine Grundzüge der physiologischen Optik im Handb. der ges. Augenheilkunde, II. Bd. 2. Th. S. 488; siehe auch Helmholtz, Physiol. Optik, S. 315.) den Schluss zieht, dass mit der Abnahme der absoluten Helligkeit auch die Empfindlichkeit für Helligkeitsunterschiede abnimmt. Ich sage zunächst nur «in gewisser Uebereinstimmung», weil ich in Aubert's Mittheilungen keine Angabe darüber finde, ob er seine mit weissem Lichte ausgeführten Versuche mit dem gleichen Resultate auch mit den einzelnen Spectralfarben wiederholt hat.

Um so mehr kann es auffallen, dass die Genauigkeit der Bestimmung der A-werthe durch grössere absolute Helligkeit nicht nur nicht erhöht, sondern eher etwas vermindert wird. Es hängt aber diese Erscheinung nicht mit der Helligkeit als solcher, sondern vielmehr mit der verminderten Concentration der Lösungen zusammen und mit dem bereits von von Vierordt abgeleiteten Satze, dass «die kleinsten messbaren verhältnissmässigen Concentrationsunterschiede bei verschiedenen concentrirten Lösungen derselben Substanz sich umgekehrt wie die Concentrationen verhalten.»<sup>2)</sup>

Es kann nämlich eine Winkeldifferenz von bestimmter Grösse bei kleinen absoluten Winkelwerthen nur einen sehr geringen Intensitätsunterschied bedeuten, während dieselbe Differenz infolge der besonderen Beziehung zwischen restirender Lichtintensität und Grösse des Drehungswinkels vom

<sup>1)</sup> Man kann für Columne 4 bedeutend höhere Zahlen, z. B. 150, 160 etc., erhalten, wenn man sich zum Zwecke genauer Einstellung des Nicols nicht eines mit der ganzen Hand zu regierenden Handgriffs, sondern einer mit nur zwei Fingern zu bewegenden Mikrometerschraube bedient, wie sie mein eigener Apparat gleichfalls besitzt.

Hüfner.

<sup>2)</sup> Siehe Vierordt, a. a. O., S. 38, ff.



Nicol bei höheren Winkelwerthen einem viel beträchtlicheren Helligkeitsunterschiede entsprechen wird. Umgekehrt wird aber auch bei geringen Concentrationen eine kleine Intensitätsdifferenz bereits einen verhältnissmässig grossen Concentrationsunterschied anzeigen, und wenn man sich daher in einem Falle, wo die Concentration an sich eine geringe ist, bei der Einstellung des Nicols um gleichviele Minuten irrt, wie bei Untersuchung grosser Concentrationen, so wird die dadurch bedingte Verschiedenheit in der Grösse des Extinctionscoefficienten auch auf die Grösse von  $A$  hier einen grösseren Einfluss üben, wie beim Arbeiten mit grossen Concentrationen.

## § 7.

Ich gebe endlich eine letzte grössere Tabelle, welche den Einfluss zeigt, den ein Einstellungsfehler von  $+ 0^{\circ} 17'$  auf die Berechnung einer unbekanntenen Concentration ausübt, wenn man dieser Berechnung den Werth 0,001324 für  $A_0$  zu Grunde legt, und wenn die einzelnen Concentrationsgrade sehr verschiedene sind.

Tabelle VII.

$$A_0 = 0,001324.$$

Versuchs- numm.	$\epsilon_0$ , berechnet aus einem beliebigen Winkel $\varphi$ .	$E_0$ , berechn. aus $\varphi + 0^{\circ} 17'$ .	$c = A_0 \epsilon_0$ .	$C = A_0 E_0$ .	Differenz in %
1	0,90530	0,91678	0,001199	0,001214	1,23
2	0,83860	0,84910	0,001110	0,001124	1,24
3	0,79802	0,80796	0,001057	0,001070	1,21
4	0,64548	0,65346	0,000855	0,000865	1,16
5	0,63988	0,64782	0,000847	0,000858	1,28
6	0,57548	0,58266	0,000762	0,000771	1,14
7	0,54836	0,55524	0,000726	0,000735	1,22
8	0,54634	0,55320	0,000723	0,000732	1,23
9	0,47138	0,47742	0,000624	0,000632	1,27
10	0,44276	0,44850	0,000586	0,000594	1,35
11	0,40980	0,40520	0,000543	0,000550	1,27

Mittel = 1,24

Man sieht, dass hier die procentischen Fehler zwischen 1,2 und 1,3 schwanken, und dass sie somit etwa dem mittleren Fehler gleichkommen, den Herr Prof. Hüfner in der

That bereits früher aus einer längeren Reihe wirklicher Hämoglobinbestimmungen herausgerechnet hat.<sup>1)</sup>

### § 8.

Die vorliegenden Zahlenresultate geben jetzt Material genug an die Hand, um darnach zu beurtheilen, wie viel in Tabelle IV. von dem mittleren und wahrscheinlichen Fehler der Einzelbestimmung der A-werthe auf Rechnung der mittleren Empfindlichkeit des Auges für Intensitätsunterschiede, wie viel auf Rechnung der wechselnden Concentration und anderer aus den angewandten Methoden entspringender Fehlerquellen zu setzen ist.

Der mittlere Fehler der Einzelbestimmung betrug dort

$$\text{für } A_0 \pm 0,000062 = \pm 4,6\%,$$

$$\text{» } A_0' \pm 0,000041 = \pm 4,1 \text{ »};$$

der wahrscheinliche Fehler derselben

$$\text{für } A_0 \pm 0,000042 = \pm 3,2\%,$$

$$\text{» } A_0' \pm 0,000028 = \pm 2,8 \text{ »}.$$

Der durch die begrenzte Unterschiedsempfindlichkeit des Auges bedingte mittlere Fehler der Einzelbestimmung beträgt auch im höchsten Falle für beide Werthe (vgl. Tab. IV. und V., Columne 5) nicht mehr als  $\pm 0,000021$ , nämlich für  $A_0$  im Durchschnitt  $\pm 0,000017$ , für  $A_0'$   $\pm 0,000014$ . Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, dass die Zuverlässigkeit meiner Einzelbestimmungen der A-werthe nicht so sehr in der Leistungsfähigkeit meines Auges, als vielmehr in anderen Fehlerquellen ihre Schranke hat. Trotz dieser anderen Fehlerquellen sind aber, wie bereits oben bemerkt, die für die fraglichen optischen Constanten erlangten Endresultate doch sehr genau; denn ihr wahrscheinlicher Fehler betrug ja

$$\text{für } A_0 \text{ nur } 0,8\%,$$

$$\text{» } A_0' \text{ » } 0,7 \text{ »}.$$

<sup>1)</sup> Ueber quantitative Spectralanalyse und ein neues Spectrophotometer; Kolbe's Journal 16, 313. Der mittlere, aus einer Reihe von 14 Einzelversuchen herausgerechnete, Fehler betrug dort  $\pm 1,23\%$ .



## § 9.

Trotzdem so die genaue Feststellung der gesuchten Constanten als gelungen zu betrachten ist, müsste ich doch die Lösung der mir gestellten Aufgabe für unvollständig und sogar die Kenntniss jener Werthe für theilweise werthlos erachten, wenn sich ergeben sollte, dass sich der sauerstoffhaltige Blutfarbstoff so, wie er im verdünnten Blute selbst enthalten ist, vor dem Spectrophotometer anders verhält, wie der vorher krystallinisch dargestellte und nachher erst wieder in Wasser gelöste Farbstoff; desgleichen auch, wenn man finden würde, dass zwar die bezüglichlichen Farbstoffe in beiden Fällen die gleichen, dass aber auch im arteriellen, mit Sauerstoff hinlänglich beladenen, Blute gewöhnlich noch andere Körper zugegen sind, welche in derselben Gegend wie jene Licht absorbiren und das oben für das Oxyhämoglobin gefundene Verhältniss  $\frac{A_o}{A_o'} = 1,324$  sehr wesentlich stören können.

In Bezug auf Hundeblood sind diese Zweifel von Herrn Prof. Hüfner schon so gut wie gelöst. Er fand nämlich den Quotienten  $\frac{A_o}{A_o'}$

$$\text{für Farbstofflösungen} = \frac{1452}{1110} = 1,308,$$

$$\text{» verdünntes Blut} = \frac{1477}{1110} = 1,330^1).$$

Dazu ist aber zu bemerken, 1) dass die Zahl 0,001452 das Mittel aus nur 6 Versuchen darstellt, während der Werth 0,001477 das Mittel aus deren 18, und 2) dass die Differenz  $0,001477 - 0,001452 = 0,000025$  nicht grösser ist wie jene, die, wie oben gezeigt, allein schon durch die jeweilige Unterschiedsempfindlichkeit des Auges bei Einzelbestimmungen bedingt sein kann.

Herr Prof. Hüfner erlaubte sich desshalb auch, den letzteren Quotienten als den allein richtigen, auch für krystallinischen Blutfarbstoff gültigen, anzunehmen. Vergleicht man

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift III., p. 6 ff.

nun gar diesen Hufner'schen Quotienten  $\frac{1477}{1110} = 1,330$ , mit meinem obigen, an blossen Farbstofflösungen ermittelten:  $\frac{1324}{1000} = 1,324$ , so ist die Uebereinstimmung der beiden nicht nur, wie bereits oben (S. Seite 21) bemerkt, ausserordentlich überraschend, sondern sie beseitigt auch ein für alle Male jegliche Zweifel, die über die Identität der Erscheinung im Blute und in künstlichen Lösungen, sowie über die praktische Verwendbarkeit des von uns gewonnenen Zahlenverhältnisses für Versuche mit Hundeblood noch herrschen könnten.

### § 10.

Ich habe aber denselben Vergleich auch mit dem Blute des Meerschweinchens und der Ratte durchgeführt. Dabei wurden immer nur solche Blutlösungen untersucht, die nach passender Verdünnung in gleicher Weise wie die Farbstofflösungen erst noch mit ein paar Körnchen kohlen-sauren Natrons versetzt worden waren. Der Werth von  $A_0'$  wurde in allen Fällen, wie für Hundeblood, = 0,001000 gesetzt und nun  $A_0$  mittelst der experimentell festgestellten Extinctions-coefficienten  $\epsilon_0$  und  $\epsilon_0'$  jedesmal aus der Gleichung berechnet:

$$A_0 = \frac{\epsilon_0' A_0'}{\epsilon_0}.$$

Folgende kleine Tabelle ist wohl jetzt selbstverständlich. Bemerken will ich nur noch, dass auch die für Ratten- und Meerschweinchenblut aufgestellten Zahlenwerthe je aus den Daten mehrerer kleiner Versuchsreihen berechnete Mittel sind.

Tabelle VIII.

Thierspecies.	$A_0$	
	Blutlösung	Farbstofflösung
Hund . . . . .	0,001330	0,001324
Ratte . . . . .	0,001337	0,001349
Meerschweinchen	0,001359	0,001357

Wie man sieht, sind auch hier die Unterschiede der  $A_0$ -werthe wieder so gering, dass sie weit innerhalb der Fehlergrenzen der gewöhnlichen Beobachtung liegen. Allein



die grosse Aehnlichkeit der bei den drei Thierspecies gefundenen Werthe des Quotienten  $\frac{A_o}{A_o'}$  veranlasste mich, sogleich noch drei weitere Blutarten zu untersuchen, wie sie mir gerade zur Hand waren, und in der That erhielt ich auch, — natürlich unter der gleichen Voraussetzung, dass  $A_o' = 0,001$ , — für  $A_o$

bei Eulenblut den Werth 0,001311  
 » Katzenblut » 0,001326  
 » Menschenblut » 0,001320,

also lauter den obigen so ähnliche Werthe, dass an der wirklichen Identität des Quotienten für alle sechs Blutarten wohl kaum noch zu zweifeln ist.

Sei folgendes die Reihe aller bis jetzt gefundenen Quotienten:

Tabelle IX.

Thierspecies.	$\frac{A_o}{A_o'}$	
	Blutlösung.	Farbstofflösung.
Hund . . . . .	1,330	1,324
Ratte . . . . .	1,337	1,349
Meerschweinchen	1,359	1,357
Eule . . . . .	1,311	fehlt
Katze . . . . .	1,326	—
Mensch . . . . .	1,320	—
Mittel =	1,330	1,343

so ist das Mittel aller Zahlen der 2. Columne = 1,330, aller derjenigen der 3. Columne = 1,343 und wie sich auch ohne besondere Ausführung erkennen lässt, beträgt die mittlere Abweichung vom Mittel in der 2. Columne kaum mehr als 1%, diejenige der 3. Columne sogar weniger als 1%.

Hiernach wird nun auch die Wahrscheinlichkeit, 1) dass die färbende, beziehungsweise lichtabsorbirende Atomgruppe in allen einzelnen Hämoglobinen dieselbe sei, und 2) dass alle von mir untersuchten Blutfarbstoffe einander sehr ähnliche Molekulargewichte besitzen, immer grösser und grösser. Und gerade, weil die letztere Wahrscheinlichkeit besteht, sind die gefundenen Zahlen weiter

auch für die menschliche Physiologie, und sind sie für den praktischen Arzt schon immer von Bedeutung.

Jedenfalls dürfen wir jetzt bei photometrischen Untersuchungen des Menschenblutes die für Hundehämoglobin gefundenen Constanten so lange als auch für dieses brauchbar und gültig betrachten, bis es gelungen sein wird, an Lösungen reinen krystallisirten Blutfarbstoffs vom Menschen die fraglichen Constanten wirklich absolut und nicht bloss ihren Quotienten  $\frac{A_o}{A_o'}$  zu ermitteln.

### § 11.

Es sei mir zuletzt noch die Mittheilung gestattet, dass ich Gelegenheit gehabt habe, meine spectrophotometrischen, auf die Chemie des Blutes gerichteten Uebungen in zwei Fällen auch praktisch-medicinisch zu verwerthen. In beiden Fällen fand ich es zweckdienlich und gelang es auch vorzüglich, einige (etwa 5—6) Tropfen Blut direkt, mittels feinen Einstichs, aus der Vene zu entnehmen und sie in eine abgewogene kleine Menge einer etwa 1%igen Lösung kohlensauren Natrons fallen zu lassen, mit der sie sogleich geschüttelt und, nach abermaligem Wägen, zum Zwecke der Klärung einige Stunden lang an einem kühlen Orte stehen gelassen wurden. Mit dieser concentrirten Lösung verfuhr ich ganz wie mit den concentrirten Lösungen des Oxyhämoglobins von Thieren.

Im ersten Falle, der eine Frau betraf, die bei einer Magenblutung gegen zwei Liter Blut verloren hatte, ergab sich so etwa zehn Tage nach dem Blutverluste ein Gehalt des Blutes an Farbstoff = 6,72%. — Es wurde nun eine Transfusion frischen, gesunden Menschenblutes gemacht. Die Operation gelang vorzüglich und nach abermals zehn Tagen fand sich der Farbstoffgehalt des Blutes bereits auf 10,09% erhöht. Die Kranke ist seitdem genesen.

Der zweite Fall betraf einen alten, marastischen Mann von 76 Jahren. Als ich sein Blut zum ersten Male untersuchte, zeigte es einen Farbstoffgehalt von 4,66%; acht Tage



darauf einen solchen von nur 3,66%. Patient starb noch am gleichen Tage, an welchem ich ihm ein paar Tropfen Blut für die zweite Untersuchung entnommen hatte.

Mit den wenigen nothwendigen Wägungen nimmt eine derartige sehr genaue Untersuchung nicht mehr, eher weniger als eine Stunde Zeit in Anspruch.

Zusatz zu vorstehender Abhandlung  
von *G. Hüfner*.

Ich kann vorstehender Arbeit des Herrn v. Noorden nur noch die Bemerkung beifügen, dass die darin gegebenen Werthbestimmungen von  $A_o$  und  $A_o'$ , soweit es sich um den Blutfarbstoff des Hundes handelt, in der That nunmehr als endgültige betrachtet werden dürfen, und dass ich daher nicht anstehe, statt meiner früheren Zahlenwerthe, sowohl für  $A_o$  und  $A_o'$ , wie für  $A_r$  und  $A_r'$ , in Zukunft nur noch die folgenden zu gebrauchen:

	für $A_o$	die Zahl	0,001330
†	» $A_o'$	»	0,001000
†	» $A_r$	»	0,001091
	» $A_r'$	»	0,001351

Tübingen, im November 1879.

---