

## Ueber das Oxyhämoglobin des Schweines.

Von

**J. Otto** aus Christiania.

---

(Aus dem Laboratorium des Herrn Professor Hüfner in Tübingen).

(Der Redaktion zugegangen am 25. September 1882).

---

Nicht immer und nicht überall stehen demjenigen, der sich mit der Untersuchung des Blutfarbstoffs im Grossen beschäftigen möchte, reichliche Mengen des theuren Hundesblutes zur Verfügung, und es wäre gewiss als ein Gewinn zu erachten, wenn es gelänge, auch aus anderen Blutarten, namentlich aber aus solchen, die man täglich vom Schlächter billig und in grossen Quantitäten beziehen kann, in einfacher Weise grosse Mengen der reinen Krystalle zu erhalten. Ich habe mich deshalb auf Veranlassung des Hrn. Prof. Hüfner um die Auffindung einer Methode bemüht, welche gestattet, zunächst den Blutfarbstoff des Schweines in grosser Menge zur Krystallisation zu bringen. Herr Prof. Hüfner hatte im vergangenen Winter die Beobachtung gemacht, dass frisches, defibrinirtes Schweineblut, direkt mit dem dritten Theile einer etwa 1-procentigen alkoholischen Chinolinlösung versetzt und dann in eine Kältemischung gestellt, nach mehreren Tagen in einen dichten, prächtig rothen Krystallbrei verwandelt war; dass aber eine herausgenommene Probe desselben, die sich unter dem Mikroskope meist als ein Haufwerk dünner rother Nadeln, bisweilen untermengt mit grösseren hellrothen Tafeln, darstellte, in ausserordentlich kurzer Zeit wieder zerfloss.

Das Gleiche war aber auch eingetreten, wenn man statt der alkoholischen Chinolinlösung eine wässrige Lösung der salzsauren Basis von gleicher Concentration zum Blute gefügt

und erst hinterdrein die Mischung beider mit absolutem Alkohol versetzt hatte. So war z. B., freilich erst nach acht Tagen, eine prächtige Krystallisation erfolgt bei folgenden verschiedenen Mischungsverhältnissen:

- |   |   |
|---|---|
| 1) 100 ccm. Blut,<br>40 ccm. Chinolinsalz-<br>lösung,<br>30 ccm. Alkohol. | 2) 100 ccm. Blut,<br>30 ccm. Chinolinsalz-<br>lösung,<br>30 ccm. Alkohol. |
| 3) 100 ccm. Blut,<br>25 ccm. Chinolinsalz-<br>lösung,<br>25 ccm. Alkohol. |   |

Die Krystallmasse hatte sich auch durch Filtration auf einem Papierfilter in der Kälte isoliren, mit 4 fach verdünntem Alkohol auswaschen, alsdann in wenig Wasser unzersetzt wieder lösen und durch Zusatz von einem Achtelvolumen Alkohol und mehrtägiges Stehenlassen in einer Kältemischung von Neuem wieder mit hellrother Farbe, wenngleich mit bedeutendem Verluste, fällen lassen. In der Regel aber war diese zweite Krystallisation schönrother Krystalle ausgeblieben, und dafür hatte sich in einigen Fällen nach längerem, etwa 8—14 Tage langem, Stehen jene breiige, missfarbige, stellenweise atlasglänzende Masse ausgeschieden, die sich bei genauerer Untersuchung als krystallinisches Methämoglobin herausstellte<sup>1)</sup>.

Wegen der geschilderten Unsicherheit der Resultate gab ich das oben genannte Verfahren auf und begann nun zunächst mit der Senkung, resp. Isolirung von Schweineblutkörperchen nach der bekannten Methode mittelst verdünnter Kochsalzlösung.

War die Senkung etwa innerhalb zweier Tage gelungen, so wurden die isolirten Körperchen bei einer Temperatur von 50° in möglichst wenig Wasser gelöst, die Lösung filtrirt, wieder erkalten gelassen und nach dem gewöhnlichen Verhältnisse von 4:1 mit kalt gehaltenem absoluten Alkohol

<sup>1)</sup> Siehe die nachstehende Mittheilung.

versetzt. In der Regel war der Cylinder, in welchem sich die Mischung befand, bereits nach eintägigem Stehen in der Kälte mit einer dichten Masse feiner, hellrother Krystallnadeln erfüllt, die bei Zimmertemperatur in erstaunlich kurzer Zeit wieder zerflossen. Wegen dieser ungemeinen Löslichkeit der Krystalle kommt natürlich Alles darauf an, jeden Ueberschuss von Wasser bei der Auflösung der isolirten Körperchen zu vermeiden.

Ich habe gefunden, dass etwa 300 ccm. Wasser für die aus 1 Liter Blut gewonnenen Körperchen vollkommen hinreichen; dessgleichen auch, dass geringe Fäulniss die Lösung der Körperchen ungemein befördert, ohne doch die spätere Ausscheidung schön rother Oxyhämoglobinkrystalle irgendwie zu gefährden. Zum Zwecke des Umkrystallisirens ist es in allen Fällen gut, die vorherige Isolirung des Krystallbreies auf einem Faltenfilter, ebenso das mehrmalige Auswaschen des Breies mit 3fach verdünntem Alkohol, nur im Eisschranke vorzunehmen. Dagegen geschieht die Lösung des Breies natürlich wiederum bei einer Temperatur von mindestens 40° und nur in soviel Wasser, als eben nothwendig ist. Für alle weiteren Operationen gelten die nämlichen Regeln, wie bei der Darstellung reiner Hundebloodkrystalle.

Da auch die zweite Krystallisation meist nur einen Brei kleiner nadelförmiger Krystalle liefert, der sich durch ein glattes Filter unmöglich von der Flüssigkeit trennen lässt, so habe ich denselben in der Kälte erst abermals auf ein Faltenfilter gebracht und mit der erwähnten Mischung ausgewaschen, hernach aber auf Trockenplatten gestrichen und noch ausserdem unter einer Glasglocke, und zwar gleichfalls in der Kälte, über Schwefelsäure gestellt.

Die noch etwas feuchten Krystalle zeigten, in Wasser gelöst, ein vollkommen reines Oxyhämoglobinspectrum. Die schwefelsäure-trockene Masse gab, gepulvert und bis 115° im Wasserstoffstrome erwärmt, noch 5,9% Wasser ab, also mehr als das Oxyhämoglobin des Hundes (gegen 4%), und die Elementaranalyse des bei 115° getrockneten Krystallpulvers lieferte folgende Werthe:

## I. Erstes Präparat.

1. Angewandte Substanz . . . . .	0,2886	gr.
Gefundene Kohlensäure . . . . .	0,5748	«
Gefundenes Wasser . . . . .	0,1935	«
2. Angewandte Substanz . . . . .	0,2468	gr.
Gefundenes Ammoniak . . . . .	0,0484	«
3. Angewandte Substanz . . . . .	2,0211	gr.
Gefundenes schwefelsaures Baryum	0,0986	«
4. Angewandte Substanz . . . . .	4,9633	gr.
Gefundenes Eisen . . . . . a)	0,0214	«
« . . . . . b)	0,0210	«
« . . . . . c)	0,0209	«
Mittel . . . . .	0,0211	«

## II. Zweites Präparat.

1. Angewandte Substanz . . . . .	0,4211	gr.
Gef. Kohlensäure . . . . .	0,8367	«
Gef. Wasser . . . . .	0,2781	«
2. Angewandte Substanz . . . . .	0,2789	gr.
Gef. Ammoniak . . . . .	0,0549	«
3. Angewandte Substanz . . . . .	2,5222	gr.
Gef. schwefelsaures Baryum . . . . .	0,1216	«

## III. Drittes Präparat.

1. Angewandte Substanz <sup>1)</sup> . . . . .	0,3883	gr.
Gef. Wasser . . . . .	0,2395	«
2. Angewandte Substanz . . . . .	0,2021	gr.
Gef. Ammoniak . . . . .	0,0400	«

## IV. Viertes Präparat.

1. Angewandte Substanz . . . . .	0,5111	gr.
Gef. Kohlensäure . . . . .	1,0157	«
Gef. Wasser . . . . .	0,3331	«

<sup>1)</sup> Die Kohlenstoffbestimmung verunglückte.

Hinsichtlich der Ausführung der einzelnen Stickstoff-, Schwefel- und Eisenbestimmungen gilt, was in der nachstehenden Mittheilung (S. 67 ft.) bemerkt ist.

Auf Procente berechnet ergeben sich demnach folgende analytische Resultate:

	I.	II.	III.	IV.	Mittel.
Kohlenstoff	54,13 %	54,20%	—	54,19%	54,17 %
Wasserstoff	7,43 «	7,35 «	7,43%	7,24 «	7,38 «
Stickstoff	16,14 «	16,22 «	16,32 «	—	16,23 «
Schwefel	0,66 «	0,66 «	—	—	0,66 «
Eisen	0,426 «	—	—	—	0,426 «
Sauerstoff	—	—	—	—	21,364 «
					100,000%

Die nahe Uebereinstimmung mit den entsprechenden Prozentzahlen des zugehörigen Methämoglobins, wie mit denen des Oxyhämoglobins vom Hunde, ist, wie folgende Zusammenstellung zeigt, evident.

	Oxyhämoglobin (Hund)	Oxyhämoglobin (Schwein)	Methämoglobin (Schwein)
Kohlenstoff	54,00%	54,17%	53,99%
Wasserstoff	7,25 «	7,38 «	7,13 «
Stickstoff	16,25 «	16,23 «	16,19 «
Schwefel	0,63 «	0,66 «	0,66 «
Eisen	0,42 «	0,43 «	0,45 «
Sauerstoff	21,45 «	21,36 «	21,58 «

Die grosse Aehnlichkeit und nahe Verwandtschaft des Schweinehämoglobins mit demjenigen des Hundes geht aber auch noch aus Anderem hervor.

Zunächst ist das Lichtschwächungsvermögen seiner Lösungen wohl absolut dasselbe, wie dasjenige der Lösungen von Hundebloodkrystallen, wenigstens wenn man alle Bestimmungen der Concentration solcher Lösungen auf den Gehalt an bei 115° getrockneter Substanz bezieht.

Folgende Tabelle, die für Jeden, der sich mit der quantitativen Spectralanalyse vertraut gemacht, ohne Weiteres verständlich ist, kann dies zur Genüge beweisen. Die darin

verzeichneten, aus den Beobachtungsdaten berechneten, Extinctionscoefficienten,  $\varepsilon_o$  und  $\varepsilon'_o$ , ebenso wie die zugehörigen Werthe von  $A_o$  und  $A'_o$ , gelten, wie in allen früher mit Blut angestellten Versuchen dieser Art (siehe auch die nachstehende Mittheilung, S. 68), für die Spectralregionen D 32 E bis D 53 E, bzw. D 63 E — D 84 E.

Vers.- Nr.	C	$\varepsilon_o$	$\varepsilon'_o$	$A_o$	$A'_o$	$\frac{A_o}{A'_o}$	
1.	0,00096957	0,70440	0,93678	0,001384	0,001035	1,33	
2.	0,00079572	0,60250	0,80092	0,001321	0,000994	1,33	
3.	0,00099926	0,74540	0,96624	0,001343	0,001025	1,31	
4.	0,00092496	0,69388	0,92018	0,001330	0,001005	1,33	
				Mittel:	0,001345	0,001014	1,33

Für das Oxyhämoglobin des Hundes ist  $A_o = 0,001330$   
und  $A'_o = 0,001000$ ;

der Werth von  $\frac{A_o}{A'_o}$  aber ist für beide Oxyhämoglobine absolut identisch, nämlich = 1,33.

Zu welchen Schlüssen die nahe Uebereinstimmung dieser optischen Werthe berechtigen darf, und von welcher Bedeutung sie ist für die praktischen Zwecke der quantitativen Spectralanalyse, darüber siehe die bezüglichen Bemerkungen in der Abhandlung von Noorden's, diese Zeitschrift, Bd. 4, S. 31 ff.

Hinsichtlich der Menge von Sauerstoff, welche 1 gr. trockenes (bei 115° getrocknet gedacht) Schweinehämoglobin zu binden vermag, habe ich bisher mit dem Hüfner'schen Verdrängungsapparate<sup>1)</sup> nur einen einzigen und zwar vorläufigen Versuch ausgeführt. Ich will das Resultat desselben nichtsdestoweniger hier mittheilen, da es die Annahme höchst wahrscheinlich macht, dass auch in dieser Beziehung zwischen dem Hämoglobin des Hundes und demjenigen des Schweines

<sup>1)</sup> Siehe diese Zeitschrift, Bd. I, S. 313; ferner Journal für praktische Chemie [2] Bd. 22, S. 383.

eine sehr nahe, wenn nicht vollkommene, Uebereinstimmung herrscht.

158,25 ccm. einer frisch bereiteten, vollständig mit atmosphärischer Luft gesättigten Lösung von feuchten Oxyhämoglobinkrystallen (1. Krystallisation) gaben, eine Stunde lang mit einem Ueberschusse reinen Kohlenoxyds geschüttelt und darauf mit dem Vacuum in Verbindung gesetzt, ein Gas ab, das erst von etwaiger Kohlensäure durch Bunsen's Natronlauge (siehe Gasometrische Methoden, 2. Aufl. S. 102) befreit, hernach aber wie folgt analysirt wurde.

	Vol.	Druck	Temp.	Vol. bei 0° u. 1 <sup>m</sup> Dr.
Gesamntes Gasvolumen + neu zugefügtem Kohlen- oxyd . . . . .	406,03	0,6514	17,0°	249,0
Nach der Explosion . . .	360,47	0,6068	17,0°	205,9
Nach Absorption der Koh- lensäure . . . . .	326,50	0,3872	17,0°	119,0
Contraction bei der Verpuffung . . . =			43,1	
Contraction durch Absorption . . . =			86,9	
Durch die 1. Contraction angezeigter Sauerstoff . . . . . =			43,1	
Durch die 2. Contraction angezeigter Sauerstoff . . . . . =			$\frac{86,9}{2} = 43,45$	
Sauerstoff im Mittel . . . . . =			43,27	

Nach der Calibrirtabelle sind 43,27 Theilstriche des benutzten Eudiometers = 8,74 ccm. Da nun im vorliegenden Falle das angewandte Flüssigkeitsvolumen von 158,25 ccm. gemäss der photometrischen Bestimmung 6,323 gr. Oxyhämoglobin enthielt, so wäre der gesuchte Werth von  $\frac{V}{Hb}$  =  $\frac{8,73}{6,323} = 1,38$  ccm. gefunden gewesen. Allein, da die Lösung unmittelbar vor dem Verdrängungsversuche durch langes Schütteln mit Luft noch vollständig mit Sauerstoff vom herrschenden Partiardrucke gesättigt ward, so will ich

einmal, wie es früher Hr. Prof. Hüfner<sup>1)</sup> gethan, annehmen, die angewandte Flüssigkeit, minus Hämoglobin, habe selber etwa 0,6 ccm. Sauerstoff physikalisch absorbirt enthalten und habe diesen Antheil beim Evacuiren mit abgegeben. Unter dieser Voraussetzung würde der gesuchte Werth =

$$\frac{8,73 - 0,6}{6,323} = 1,28 \text{ ccm. werden. } \gamma$$

Ich werde mich bemühen, die annähernde Richtigkeit dieser für die Lehre von der Athmung fundamentalen Zahl auch für das Schweinehämoglobin noch durch weitere Versuche zu erhärten, gleichzeitig aber auch die Löslichkeitsverhältnisse, sowie den Krystallwassergehalt des in Rede stehenden Blutfarbstoffs in definitiver Weise festzustellen.

---

<sup>1)</sup> Siehe diese Zeitschrift, Bd. I, S. 386 ff. — Vergleiche dagegen auch seine späteren Bemerkungen im Journal für praktische Chemie, Bd. 22, S. 383.

Tübingen, im September 1882.