

# Ueber Basen- und Säurecapacität des Blutes und der Eiweisskörper.

Von

Dr. med. et phil. **Karl Spiro**,

I. Assistenten des Instituts,

und Dr. phil. **Wilhelm Pemsel**.

---

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Strassburg. Neue Folge No. 13.)

(Der Redaction zugegangen am 4. October 1898.)

---

## I.

Man kann die bisher in Vorschlag gebrachten und in Verwendung gekommenen Methoden zur quantitativen Bestimmung der Blutalkalescenz im Wesentlichen wohl in zwei Gruppen eintheilen, von denen die eine zur Erkennung der Reaction einen Indicator anwendet, die andere durch Messung der im Blute enthaltenen Kohlensäure einen indirekten Weg einschlägt. Wie schon das Nebeneinanderbestehen zweier Methoden vermuthen lässt, ist keine von beiden einwandfrei. Die von Walter (in Schmiedeberg's Laboratorium) eingeführte Methode der Bestimmung durch Messung der Kohlensäure benutzt als Indicator zweifellos eine genau definirbare, messbare und auch hervorragend wichtige Function der Blutalkalescenz, und so sind alle auf diesem Wege gewonnenen Daten sicherlich von dauerndem Werth und für die eventuell zu ziehenden Schlüsse ein vorzüglich sicheres Fundament. Andererseits muss gesagt werden, dass diese Methode besondere Hilfsmittel verlangt und insofern im Stich lässt, als sie die neben den kohlen-sauren Salzen vorhandenen alkalischen Affinitäten vollkommen vernachlässigt, auch über die Menge der primären und secundären

Carbonate nichts aussagt. Schon Kraus hat hervorgehoben, dass so z. B. eine Steigerung des Kohlensäuregehaltes über die normale Grenze nicht ohne Weiteres zu einem Schlusse auf die Alkalivermehrung verwerthet werden darf.

Aber auch gegen die andere Methode, welche einen Farbstoff oder, wie dies neuerdings v. Limbeck vorgeschlagen hat, gebildetes Acidalbumin als Indicator verwendet, sind Bedenken erhoben worden. In der That ist ja wegen der Eigenfarbe des Blutes die Endreaction bisweilen ziemlich schwer zu erkennen, auch veranlasst die Anwesenheit von Kohlensäure gelegentlich wohl gewisse Schwierigkeiten. Mehr jedoch ist hier zu berücksichtigen, dass auch gegen die theoretische Verwendbarkeit der gefundenen Zahlen von competenten Seite Widerspruch erhoben worden ist. Derselbe gründet sich im Wesentlichen darauf, dass im Blute ein Gemisch vorhanden ist von zahlreichen, in ihrem sauren und basischen Verhalten zweifellos ganz unbekanntem Substanzen, deren einige als Eiweisskörper, Amidosäuren, Lecithin u. s. w. sogar amphoterer Verhalten zeigen. Diese von H. Meyer vorgetragene Bedenken verdienen sicherlich eingehende Berücksichtigung, doch ist seit der Zeit, wo dieselben geäußert wurden (1881 resp. 1883), eine Wandlung in unseren Ansichten über die Natur der Lösungen erfolgt, welche unsere Anschauungen über den Vorgang bei der Titration wesentlich geändert, ja eine einheitliche Theorie der Indicatoren erst ermöglicht hat.

Wie wir heute nicht mehr annehmen, dass im Blute die Salze  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  u. s. w. vorhanden sind, sondern die Ionen  $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{PO}_4^-$ ,  $\text{CO}_3^-$ , so können wir auch logischer Weise versuchen, im Blut die vorhandenen Säureionen oder Basenionen durch Anwendung eines Indicators massanalytisch zu bestimmen. Diese Erkenntnis, dass die meisten analytischen Reactionen Ionenreactionen sind, hat uns also auch für die Titration des Blutes das Verständniss und die Möglichkeit der Verwerthbarkeit geschaffen. Natürlich ist die Anwendbarkeit eines Indicators von seinem Ionisationsgrad in hervorragendem Maasse abhängig, aber der Ionisationspunkt, der dem Farbenumschlag eines Indicators entspricht, ist keine



zufällige, nicht weiter bestimmte Grösse, denn er liesse sich in absoluten Werthen ausdrücken und so mit ähnlichen quantitativen Bestimmungen in Vergleich stellen.

So stehen dieser Methode der Alkalescenzbestimmung jetzt wohl weniger Bedenken entgegen, als früher gelegentlich vermuthet wurde, und in der That sind wir auch erst durch dieselbe zur Erkenntniss einiger Thatsachen gekommen — wir erwähnen z. B. die von Löwy studirte ungleiche Vertheilung der Alkalien in den Körperchen und im Serum —, welche für die Physiologie von hervorragendem Interesse sind.

Leider jedoch bietet auch diese Methode besondere technische Schwierigkeiten, wie schon daraus hervorgeht, dass die ursprüngliche Methodik von Lassar, Landois, v. Jaksch, Winternitz, Tauszk, Schultz-Schultzenstein, in neuester Zeit aber namentlich von Kraus, Löwy und v. Limbeck modificirt wurde, jeder Forscher die Methodik entweder ausführlicher erörterte (H. Meyer, Jaquet) oder selbst änderte.

Wegen dieser Schwierigkeiten bietet das Einarbeiten in die Technik der Alkalescenzbestimmungen immer wieder einen Anlass zum Aendern der Versuchsmethodik. Auch wir haben in dieser Richtung Erfahrungen gesammelt, bevor wir eine Frage aus dem genannten Gebiet zu bearbeiten unternahmen. Wir möchten über diesen Theil unserer Arbeit zunächst gesondert berichten, weil die Methodik über die Tragweite der aus den Versuchen zu ziehenden Schlüsse entscheidet, und wir für einige andere Fragen aus der Chemie des Blutes etwas beisteuern können.

#### Zur Methodik.

##### a. Verfahren nach v. Limbeck.

Bei unseren ersten Versuchen zur Titration von Blut erprobten wir zunächst die Methode von v. Limbeck, der in glücklicher Weise dadurch, dass er die Eiweisskörper selbst als Indicator dienen lässt, die durch den Blutfarbstoff gegebenen Schwierigkeiten zu vermeiden suchte. Nach seiner Angabe wird in siedendheisse Säurelösung tropfenweise Blut resp.

Serum eingetragen, die überschüssige Säuremenge wird mit Natronlauge zurücktitrirt, bis das gebildete Acidalbumin aus der allerdings sehr trüben Lösung ausfällt. In dieser Weise haben wir eine grössere Reihe von Analysen ausgeführt, dabei aber gefunden, dass der Fällungspunkt des gebildeten Acidalbumins doch nicht so scharf dem Neutralisationspunkt entspricht, als dies v. Limbeck annimmt. Aehnliches hat schon Meissner für sein «Parapepton» genanntes Acidalbumin gefunden, und in neuester Zeit hat F. Goldschmidt im hiesigen Institut für Acidalbumine nachgewiesen, dass dasselbe unter Umständen schon bei saurer Reaction ausfällt. Ebenso ist auch, wie wir uns wiederholt überzeugten, der Ausfällungspunkt des Acidalbumins bei umgekehrtem Verfahren, bei der Rücktitration überschüssig zugesetzten Alkalis, ein wenig scharfer und überdies ergaben sich hierbei bisweilen Werthe, die mit den bei direkter Titration gewonnenen durchaus nicht übereinstimmen.

In Folge dieser Erfahrungen haben wir im Anschluss an das Verfahren v. Limbeck's auch das Hämoglobin resp. die Fällung des daraus durch Säure abgespaltenen «Globins» als Indicator zu verwenden gesucht, aber auch hier gefunden, dass die Abscheidung des Globins schon bei ganz schwach saurer Reaction eintritt. Weitere Versuche wurden ferner mit dem Casein angestellt. An einem vorzüglich reinen, nach Hammarsten dargestellten Präparat überzeugten wir uns, dass allerdings der Fällungspunkt des Caseins ziemlich genau neutraler Reaction entspricht, dass jedoch, wenn man eine alkalische Caseinlösung titrirt, leicht scheinbare Verluste eintreten, deren Aufklärung uns später auf anderem Wege möglich wurde.

#### b. Aussalzungsverfahren.

Bei unsern weiteren Versuchen haben wir daher davon abgesehen, «das bekannte Verhalten der Eiweisskörper gegen Säuren resp. Alkali» als Indicator zu verwenden, und gesucht, eine Versuchsanordnung zu finden, die auch die Anwendung der üblichen gefärbten Verbindungen zur Titration erlaubt.



Wir hatten uns ferner zum Ziel gesetzt, die Gesamttalkalescenz des Blutes zu bestimmen, ohne die von Zuntz, Gürber und neuerdings Hamburger gemachte Unterscheidung in diffusibles und nichtdiffusibles Alkali zu beachten. Zu diesem Vorgehen bestimmte uns in erster Linie der Umstand, dass man über das, was man nichtdiffusibles Alkali nennt, noch wenig Genaues weiss, das Vorkommen von Alkalialbuminat im Blute jedenfalls sehr unwahrscheinlich ist, und dass ferner die Methoden zur Trennung der beiden Alkaliarten (z. B. die Diffusionsmethode von Zuntz-Löwy oder Gürber), wenn wir von der erst nach Beginn unserer Versuche erschienenen Arbeit Hamburger's absehen, nicht expeditiv genug sind, um bei einer grösseren Reihe von Thierversuchen angewandt zu werden.

Das Blut zu unseren Versuchen war meist ganz frisch aus dem Schlachthaus bezogen, in einzelnen Fällen überzeugten wir uns jedoch auch von der Ausführbarkeit unserer Methoden an Hunde- und Kaninchenblut. Wir benutzten meist defibrinirtes Blut resp. abcentrifugirtes Serum (letzteres meist vom Pferde), bisweilen auch Oxalatplasma. Ferner verwandten wir stets lackfarbenes Blut bzw. richteten die Versuchsanordnung so ein, dass das Blut vor der weiteren Behandlung lackfarben wurde. Auf die Verwendbarkeit und die Wichtigkeit dieser Massregel hat zuerst Löwy hingewiesen, der zeigte, dass Blutkörperchen und Serum nicht gleichviel Alkali enthalten, sondern erstere viel reicher daran sind als letzteres. Wir haben diesem Punkte ebenfalls besondere Aufmerksamkeit zugewendet und verweisen einstweilen auf die unten folgenden Protokolle (XI, XII, XIII, XVIII, XIX), die Löwy's Befund bestätigen. In gewisser Hinsicht bereitet jedoch lackfarbenes Blut für die Titration besondere Schwierigkeiten. Wenn man nämlich die Ausfällung des störenden Blutrotes mit Ammonsulfat ausführen will, ähnlich wie dies Kraus in seiner ersten einschlägigen Arbeit kennen gelehrt hat, so versagt das Salz dem gelösten Blutfarbstoff gegenüber völlig. Um diese Schwierigkeit zu überwinden, haben wir zwei Modificationen eingeführt.

Von der bekannten Erfahrung ausgehend, dass saure Salze, resp. die Combination Säure + Salz, besser aussalzend wirken als neutrale Salze, haben wir zugleich Ammonsulfat und Schwefelsäure zugesetzt. Zunächst haben wir uns zu diesem Zwecke einer mit Ammonsulfat gesättigten  $\frac{1}{10}$  Normal-schwefelsäure bedient, sind jedoch später zu dem weitaus

bequemeren Verfahren übergegangen, Salz und Säure für sich getrennt anzuwenden. Diese Versuchsanordnung gestattet besser, die Concentration und die Menge sowohl der zugefügten Säure wie des zugefügten Ammonsulfates in beliebiger Weise zu variiren.

Durch Zusatz von Salzen zu lackfarben gemachtem Blute resp. zu in Wasser «aufgelösten» rothen Blutkörperchen wird nun aber der Farbstoff aus der wässerigen Lösung in die geschrumpften Scheiben hineingedrängt, ein unsere Versuche sehr störendes Verhalten. Wir haben daher ferner, gewissermaassen als Lösungsmittel für die Stromata und um das Lackigwerden des Blutes zu erleichtern, Aether zugesetzt. Nach mannigfachen Erfahrungen benutzten wir zu diesem Zwecke durch Schütteln mit Aether gesättigtes Wasser (Aetherwasser). Dieses Verfahren hat sich in der Folge ganz ausserordentlich bewährt und uns bei der Ausfällung des Hämoglobins und zur Gewinnung eiweissfreier Filtrate die besten Dienste geleistet.

Das von uns bei den zunächst folgenden Versuchen angewendete Verfahren gestaltete sich mit Rücksicht auf die eben erwähnten Beobachtungen folgendermaassen: Je 5 ccm. des zu untersuchenden Blutes wurden mit einer Pipette in ein Becherglas abgemessen, dazu 10 ccm. Aetherwasser (mit Aether gesättigtes Wasser) und die betreffende Säuremenge gegeben, sodann, erst nach vollständiger Auflösung der rothen Blutkörperchen, mit Ammonsulfat gefällt. Nach kräftigem Umrühren wurde durch ein trockenes, nicht zu kleines Filter filtrirt und von dem nur in seltenen Fällen etwas gefärbten eiweissfreien Filtrate ein aliquoter Theil direkt analysirt.

Da beim Herstellen gesättigter Ammonsulfatlösungen leicht saure Reaction eintritt, wurde entweder der Titer der verwendeten Lösung genau festgestellt oder die gesammte Lösung auf das Sorgfältigste neutralisirt, da die hierbei statthabende geringe Verdünnung nichts ausmacht, die Anwendung vollkommen neutraler Ammonsulfatlösungen aber bei unten zu erörternden Versuchen sich als nöthig erwies. Der starke Salzgehalt der Filtrate erschwerte die Titration vielfach sehr. Um die Aussalzung des Farbstoffes zu vermeiden, musste immer



bedeutend verdünnt werden, doch erfordert auch in verdünnteren ammonsalzhaltigen Flüssigkeiten die Titration einige Uebung.

Mit Vortheil verwandten wir hierbei als Indicator Lackmoid in der von Förster angegebenen Combination mit Malachitgrün, die wir ausserordentlich empfehlen können.

Zur Titration verwendeten wir vorläufig nur  $\frac{1}{10}$  Normallösungen, abweichend von anderen Angaben, in denen zur Bestimmung der Blutalkalescenz meist grössere Verdünnungen der Messflüssigkeiten vorgezogen werden, und suchten die eventuellen Fehler in der Ablesung durch wiederholte Kontrollproben zu eliminiren. Jeder Versuch wurde doppelt angestellt und vom Filtrate wurden mindestens zwei Proben untersucht, so dass wir unsere Versuche durch mehrfache Daten kontrollirt haben.

Wir sind uns wohl bewusst, dass die angegebene Methode eine Reihe von Fehlerquellen einschliesst, von denen wohl die wesentlichste ist, dass der ausgefallene Niederschlag in das Volumen mit eingerechnet wird. Wenn man aber bedenkt, dass wir meist nur 5 ccm. Blut anwandten, dass der Eiweissgehalt des Blutes nach v. Limbeck 17–20% beträgt, mithin unsere Lösungen (das spec. Gewicht des Blutes = 1,05 und das der Eiweisskörper = 1,28 nach C. Schmidt gesetzt)  $\frac{5 \times 1,05 \times 20}{100 \times 1,28} = 0,82$  ccm. Eiweiss enthalten, ergibt dies bei einem Gesamtvolumen von 110 bis 130 ccm. im Mittel einen Fehler von  $\frac{100 \times 0,82}{120} = 0,68\%$ , der sicher innerhalb der Grenzen der unvermeidlichen Versuchsfehler liegt. Dasselbe gilt von der eventuellen Contraction, die die concentrirte Ammonsulfatlösung bei der Verdünnung mit der Blutlösung erfährt. Ebenso wenig verkennen wir den Fehler, den das Abmessen einer so viscösen, körperliche Elemente enthaltenden Flüssigkeit, wie es das Blut ist, mit einer Pipette in sich birgt. Wie unsere Versuchsreihen zeigen, war auch dieser nicht so gross, dass hierdurch ungenügend übereinstimmende Werthe erhalten worden wären. Immerhin dürfte es sich mehr empfehlen, das Blut in einer lackigmachenden Flüssigkeit aufzufangen und seine Menge dem Gewichte nach zu bestimmen, eventuell durch Division mit 1,05 die Reduction auf das Volumen vorzunehmen.

Wir lassen nunmehr diejenigen unserer Versuche folgen, welche als erste in der beschriebenen Art angestellt worden sind.

Tabelle I.

Blutart	Ver- suchs- Nr.	ccm. Blut	ccm. Aether- wasser	ccm. Schwefelsäure	ccm. Ammonsulfat	60- sammi- volumen	ccm. des Filtrates	ccm. Lauge	5 ccm. Blut werden neutralisirt durch ccm. N/10-Säure	Scheinbare Alkaliesceuz für 100 ccm. in mgr. NaOH.	Bemerkungen	
Schweine- blut.	I	5	5	10	50	70	20	0,50 1/10 Lauge A	6,68	534,4	50 ccm. der Am- monsulfat- lösung brauchten zur Neu- tralisation 20 ccm. 1/10-SäureA.	
	IIa	5	5	10	50	70	20	0,35 »	7,09	567,22		
	IIIb	5	5	20	50	80	20	2,30 »	9,95	786,0		
	IIIa	5	5	10	50	70	20	2,35 1/50 Lauge	9,19	735,2		
	IIIb	5	5	15	50	75	20	1,50 »	9,31	744,8		
	IIIc	5	5	20	50	80	20	5,80 »	9,94	795,2		
	IIId	5	5	25	50	85	20	5,65 »	10,43	834,4		
									11,10 »			
									11,35 »			
									16,20 »			
									16,40 »			



Anmerkung 1 zu Tabelle I. Die zu unseren Versuchen verwendeten Messflüssigkeiten hatten verschiedene Concentration. Die einzelnen Lösungen sollen im Folgenden nur mit Buchstaben gekennzeichnet werden, die auf den an dieser Stelle vermerkten Titer verweisen:

$\frac{1}{10}$	Lauge A...	...	= 0,0947
»	»	B.....	= 0,1042
»	»	C .....	= 0,1000
$\frac{1}{50}$	»	.....	= 0,0189
$\frac{1}{40}$	»	... ..	= 0,0251
$\frac{1}{20}$	»	.. .....	= 0,0502
$\frac{1}{5}$	»	.....	= 0,2000
$\frac{1}{10}$	Schwefelsäure A		= 0,1042
»	»	B	= 0,1032
»	»	C	= 0,1000
$\frac{1}{5}$	»		= 0,2084

Anmerkung 2. Das zu Versuch II verwendete Blut hatte bei der Untersuchung nach v. Limbeck für 100 ccm. eine Alkaleszenz von 489,5 mgr. NaOH.

#### A. Versuche mit lackfarbigem Blut unter Rücktitration zugesetzter Säure.

##### Bestimmung der Säurecapacität.

Unsere ersten Versuche (s. Tab. I), welche wir, wie oben beschrieben, mit saurem Ammonsulfat angestellt haben, ergaben für die Alkaleszenz auffallend hohe Werthe, welche die höchsten bisher beobachteten (von Lehmann und Löwy) meist noch um mehr als die Hälfte übertrafen. Löwy vermuthet, dass die von ihm erhaltenen hohen Werthe durch das Lackigwerden des Blutes bedingt sind. Wir glauben, dass die unsrigen neben jenem Umstand auch auf die zugesetzte Säure bezogen werden müssen, welche, wie auch schon Lehmann und Löwy vermuthete, gewissermaassen im Stande wäre, weitere alkalische Affinitäten aus ihrer Bindung zu lösen.

Dass die zugefügte Säure bei den von uns angewandten Concentrations- und Temperaturverhältnissen auf die Eiweisskörper nicht hat verändernd einwirken können, geht aus Versuchen hervor, die F. Goldschmidt im hiesigen Institut angestellt hat, und über die er in seiner demnächst erscheinenden Dissertation berichten wird. Acidalbuminbildung aus dem Serumalbumin hat in unseren Versuchen sicher nicht statt haben können.

Tabelle II.

Blutart	Ver- suchs- Nr.	ccm. Blut	ccm. Aether- wasser	ccm. Schwefelsäure	ccm. Ammonsulfat	Gesamtvolumen des Filtrates	ccm. Lauge	5 ccm. Blut werden neutralisirt durch ccm. N/10-Säure	Scheinbare Alkaleszenz für 100 ccm. in mgr. NaOH.	Bemerkungen		
											ccm. des Filtrates	
Pferdeblut	IVa	5	5	20	50	80	1/10 Lauge A	17,53	1402,4	Gesättigte Ammon- sulfat- lösung für Versuch IV-VI wie Versuch I.		
	b	5	5	25	50	85	»	20,29	1623,2			
	c	5	5	30	50	90	»	20,54	1643,2			
	d	5	5	35	50	95	»	21,68	1734,4			
	e	5	10	35	50	100	»	21,36	1708,8			
	Pferdeblut	Va	5	5	25	50	85	1/10 Lauge A	19,69		1575,2	
								1,05				
								1,00				
								1,10				
								1,10				





Tabelle III.

Blutart	Ver- suchs- Nr.	ccm. Blut	ccm. Aether- wasser	ccm. Schwefelsäure	ccm. Ammonsulfat	Ge- sam- volumen	ccm. des Biltrates	ccm. Natronlauge	5 ccm. Blut brauchen zur Neu- tralisation ccm. N/10-Säure	Scheinbare Alkaliescenz zu 100 ccm. mgr. NaOH	Bemerkungen
Rinderblut	11a	5	10	20	100	135	50	2,35 1/10 Lauge A	13,89	1111,2	100 ccm. der halb- gesättigten Ammon- sulfat- lösung für Vers. VII brauchten zur Neu- tralisation 1,00 ccm. 1/10 Säurel.
	b	5	10	25	100	140	50	»	14,47	1157,6	
	c	5	10	30	100	145	50	»	14,76	1180,8	
	d	5	10	40	100	155	50	»	14,76	1180,8	
	e	5	10	50	100	165	50	»	15,30	1124,0	
Schweine- blut	11a	5	10	25	100	140	50	7,60 1/20 Lauge	15,18	1214,4	Halb- gesättigte Ammon- sulfat- lösung für Vers. VIII, IX und X neutral.
	b	5	10	30	100	145	50	»	16,03	1282,4	
	c	5	10	40	100	155	50	»	16,53	1322,4	
	d	5	10	30	100	145	50	»	16,53	1322,4	
	e	5	10	40	100	155	50	»	16,53	1322,4	
Schweine- blut	11a	5	10	10	100	125	50	2,60 1/40 Lauge	14,89	1191,2	
	b	5	10	15	100	130	50	»	15,54	1243,2	
	c	5	10	20	100	135	50	»	15,88	1270,4	
	d	5	10	30	100	145	50	»	15,55	1244,0	
	e	5	10	40	100	155	50	»	15,46	1236,8	
Pferdeblood (Oxalat- plasma)	11a	10	—	10	100	120	50	3,80 1/40 Lauge	12,40	992,0	
	b	10	—	15	100	125	50	»	12,70	1016,0	
	c	10	—	20	100	130	50	»	12,95	1036,0	
	d	10	—	30	100	140	50	»	12,66	1012,8	
	e	10	—	40	100	150	50	»	12,21	976,8	



Tabelle IV.

Blutart	Versuchs-Nr.	ccm. Blut	ccm. Aetherwasser	ccm. Säure	ccm. Ammonsulfat	6-cm. saamt-volumen	ccm. des Filtrates	ccm. Lauge	5 ccm. Blut (Serum) brauchen zur Neutralisation ccm. N/10 Säure	(Scheinbare) Alkaliesenz zu 100 ccm. mgr. NaO	Bemerkungen
Pferdeblut.	XIa	5	10	20	100	135	50	1/10 Lauge A			100 ccm. halbgcs. Ammon-sulfat-lösung für Vers. XI u. XII
	b	5	10	20	100	135	50	»			brauchten zur Neu-tralisation 0,40 ccm. 1/10-Säurel.
	c	5	10	20	100	135	50	»	16,21	1296,8	
	d	5	10	20	100	135	50	»			
	e	5	10	20	100	135	50	»			
Pferdeblut-serum (vom Blute des Versuchs XI).	XIIa	10	—	20	100	130	50	1/10 Lauge A			
	b	10	—	20	100	130	50	»	5,03	402,4	
	c	10	—	20	100	130	50	»			
Pferdeblut-serum (wie Vers. XII).	XIIIa	10	—	—	50	60	20	1/10 Säure A	1,875	150,00	Halbgcs.
	b	10	—	—	100	110	20	»	1,751	140,08	Ammon-sulfat-lösung für Vers. XIII
	c	10	5	—	100	115	20	»	1,814	145,12	neutral.

Betrachtet man die in den vorstehenden Versuchen (s. bes. Tab. II) gefundenen (scheinbaren) Alkalescenzzahlen, so sieht man, dass mit der Menge der zugesetzten Säure auch die Werthe für die Alkalescenz steigen. Auffallend erscheint ferner, dass bei den Versuchen, bei denen die niedrigsten Werthe gefunden wurden, immer noch ein beträchtlicher Ueberschuss von Säure vorhanden war. Da, wie Versuch V zeigt, bei steigender Verdünnung (aber gleicher Säuremenge) übereinstimmende Werthe erhalten wurden, so scheint die Concentration der einwirkenden Säure nicht von Belang zu sein. Wir haben dementsprechend im Versuch VI steigende Quantitäten Säure und fallende Quantitäten Wasser angewendet, so dass die Reaction bei gleichem Gesamtvolumen verlief. Wie die Tabelle zeigt, beobachteten wir auch hier eine Steigerung in den (scheinbaren) Alkalescenzzahlen parallel der Säuremenge.

Wir hielten es nun für angezeigt, diejenige Säuremenge zu bestimmen, bei welcher eine Erhöhung der (scheinbaren) Alkalescenz nicht mehr eintritt, und fanden zunächst (vergl. Tab. III), dass bis zur Anwendung von 50 ccm.  $\frac{1}{10}$  Normal-säure noch eine Zunahme stattfindet. Wegen der hierdurch herbeigeführten zu grossen Verdünnung, bei welcher in einigen Fällen Blutfarbstoff in Lösung ging, wurde nunmehr eine annähernd  $\frac{1}{5}$  normale Schwefelsäure verwendet. Hierbei ergab sich für verschiedene Blutarten (vergl. Tab. III), dass bei Anwendung von 20 ccm. eine maximale Zahl erreicht war, was uns dann auch bestimmte, in den späteren Versuchen, wo es sich hauptsächlich um Erzielung eines maximalen Werthes handelte, stets nur 20 ccm.  $\frac{1}{5}$  Schwefelsäure anzuwenden.

Auch auf Pferdeblutserum haben wir ganz in der gleichen Weise wie für lackfarben gemachtes Blut die oben beschriebene Untersuchungsweise angewandt. Wir erhielten dabei, wie aus den Versuchen XI und XII (Tab. IV) ersichtlich, für das Serum desselben Blutes niedrigere Werthe als für das Gesamtblut, ein Punkt, auf den wir weiter unten zurückkommen. Noch geringere Werthe erhielten wir (s. Versuch XIII), als wir den Versuch in der Weise variirten, dass wir, da das Serum hämoglobinfrei war, jeglichen Zusatz von Säure vermieden. Dies



überraschende Ergebniss führte zu der folgenden Versuchsreihe.

### B. Versuche mit lackfarbenem Blute und direkter Titration.

(Ohne zugesetzte Säure.)

#### Bestimmung der nativen Alkaleszenz.

Nachdem wir, wie schon erwähnt, bei einem Versuch mit Pferdeblutserum (Versuch XIII), wobei keine Säure zugefügt war, bedeutend niedrigere Werthe als beim vorherigen Säurezusatz (Versuch XII) erhalten hatten, haben wir versucht, auch bei der Hämoglobinfällung den Säurezusatz zu vermeiden. Dadurch, dass wir in dem Aether ein Lösungsmittel für das Hämoglobin zuführten und relativ grosse Mengen gesättigter Ammonsulfatlösung verwandten, war es uns möglich, auch hier farblose Filtrate zu erhalten, in denen mit Hilfe eines Indicators direkt titirt werden konnte. Bei der Ausfällung der Eiweisskörper durch Ammonsulfat + Säure hatte eine halb gesättigte Ammonsulfatlösung zur vollständigen Ausfällung genügt. Dagegen haben wir uns überzeugt, dass es in nicht saurem Blute und auch bei Zusatz von Alkali (vergl. Tab. V Versuche XIV und folgende) hierzu einer gesättigten Ammonsulfatlösung bedarf.

Die auf diese Weise erhaltenen Zahlen (vergl. Tabelle IV Vers. XII u. XIII und Tab. V) zeigen aufs Deutlichste, dass man mit Hilfe des einfachen Verfahrens oder kurz gesagt der «direkten Titration» sehr viel niedrigere Werthe erhält, als wenn man vor der Ausfällung zum Blut Säure zusetzt.

Da das bei der direkten Titration eingeschlagene Verfahren zweifellos das einfachere und eindeutigere ist, so sind auch offenbar die so erhaltenen Zahlen diejenigen, welche die wahre Alkaleszenz des Blutes am richtigsten wiedergeben, die abnorm hohen, nach Verfahren A erhaltenen sind hingegen als artificielle, durch die Versuchsmethode bedingte anzusehen. Welche Umstände die nach Verfahren A erhaltenen, ausserordentlich hohen Zahlen haben herbeiführen können, soll weiter unten erörtert werden.

### C. Versuche mit lackfarbenem Blut und Rücktitration zugesetzten Alkalis.

#### Bestimmung der Basencapacität des Blutes.

Die im vorigen Abschnitt angeführten Versuche haben gezeigt, dass auf vorgängigen Säurezusatz ganz ausserordentlich hohe Alkalescenzwerte erhalten werden. Es lag nahe, diese Erscheinung (vergl. Tab. V die Versuchsreihen XIV—XXIV a, b, wo für dasselbe Blut verschieden hohe Werte erhalten wurden) dahin zu deuten, dass mit der zugesetzten Säure die Eiweisskörper des Blutes in irgend einer Weise derart reagiren, dass bei der Ausfällung durch Ammonsulfat mit dem Eiweiss auch gebundene Säure mitausfällt. Ist dies der Fall, so wäre zu vermuthen, dass bei der amphoteren Reaction der Eiweisskörper in ähnlicher Weise wie Säuren auch Basen würden gebunden werden können.<sup>1)</sup>

Wir haben in der Folge eine grosse Reihe von Versuchen angestellt, die das bestätigen. In analoger Weise wie oben Säure haben wir abgemessene Quantitäten Alkali zu lackigem Blute hinzugesetzt, und, wie dort auffallend hohe, hier auffallend niedrige Alkalescenz (niedriger als bei der direkten Titration im Abschnitt B, ja sogar in einigen Fällen theoretisch saure Flüssigkeiten) erhalten (vergl. Tab. V, Versuche XIV—XXIV c). Auch hier stieg bei vermehrtem Zusatz von Alkali der Antheil, der nicht mehr zurücktitrirt werden konnte. Selbstverständlich durften hier nicht allezu grosse Alkalimengen angewendet werden, damit nicht durch Entweichen von Ammoniak Fehler entständen. (Vergl. Tab. VI, Versuche XVIII—XXIV.) Aus den nachstehend aufgeführten Versuchen ergibt sich übereinstimmend, dass die Menge des so verschwindenden Alkalis eine wesentlich geringere ist, als die

---

<sup>1)</sup> Es sei erwähnt, dass bei direkter Titration von Blut oder Serum (ohne Beseitigung der Eiweisskörper) alles hinzugefügte Alkali zurücktitrirt werden kann, wie Loewy, Jaquet und Hamburger gefunden haben. Bei Anwendung von Alkohol-fällung erhielt Hamburger jedoch nur einen Theil des zugefügten Alkalis zurück, weil, wie er in allerjüngster Zeit schreibt, «ein Theil in schwer diffusibles, ein anderer Theil in leicht diffusibles Alkali übergeht.» (Arch. f. Physiologie 1898, p. 42.)



Tabelle V.

Blutart	Versuchsnummer	ccm. Blut Serum	ccm. Aetherwasser	ccm. Säure ccm. Lauge	ccm. Ammonstüfät	Gesamt- volumen Biltrates	ccm. des Biltrates	ccm. Lauge ccm. Säure	5 ccm. Blut (Serum) werden neutralisirt durch ccm. Säure N/10 Lauge	Alkaloesenzwerthe für 100 ccm. in mgr. NaOH.
Schweineblut.	XIVa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	10,55 $\frac{1}{10}$ Lauge A	14,53	1162,4
	b	5	10	Kein Zusatz	100 gesättigt	115	50	0,75 $\frac{1}{10}$ Säure A	1,460	116,8
	c	5	10	10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	100 »	125	50	3,60 3,60 3,60 3,60	0,535	— 42,8
Rinderblut.	XVa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	10,65 $\frac{1}{10}$ Lauge A	14,54	1163,2
	b	5	10	Kein Zusatz	100 gesättigt	115	50	0,90 $\frac{1}{10}$ Säure A	1,739	139,1
	c	5	10	10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	100 »	125	50	3,65 3,50 3,50	0,644	— 51,52
Hammelblut.	XVIa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	11,25 $\frac{1}{10}$ Lauge A	12,98	1038,4
	b	5	10	Kein Zusatz	100 gesättigt	115	50	0,75 $\frac{1}{10}$ Säure A	1,38	110,4
	c	5	10	10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	100 »	125	50	3,35 3,35 3,30 3,30	1,225	— 98,0
Pferdeblut.	XVIIa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	9,40 $\frac{1}{10}$ Lauge A	17,49	1399,2
	b	5	10	Kein Zusatz	100 gesättigt	115	50	9,55 1,15 $\frac{1}{10}$ Säure A	2,219	177,5
	c	5	10	10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	100 »	125	50	1,05 1,10 1,10 3,75 3,75	0,123	— 9,84
Pferdeblut.	XVIIIa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	10,10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	14,51	1160,8
	b	5	10	Kein Zusatz	100 gesättigt	115	50	10,15 10,00 11,00 1,60 $\frac{1}{10}$ Säure B	1,365	109,2
	c	5	10	10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	100 »	125	50	1,55 4,00 4,00	0,298	— 23,84
Pferdeblut-Serum (vom Blut des Vers. XVIII).	XIXa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	13,25 $\frac{1}{10}$ Lauge A	6,35	508,0
	b	5	10	Kein Zusatz	100 gesättigt	115	50	13,30 14,35 14,35 1,15 $\frac{1}{10}$ Säure B	0,533	42,64
	c	5	10	10 $\frac{1}{10}$ Lauge A	100 »	125	50	1,25 1,25 4,05 4,00 3,90 3,95	0,700	— 56,0
Schweineblut.	XXa	5	10	20 $\frac{1}{5}$ Säure	100 halbg.	135	50	9,55 $\frac{1}{10}$ Lauge C	15,93	1274,4
								9,40		
								9,60 9,60		



Tabelle V. (Fortsetzung.)

Blutart	Versuchsnummer	cm. Blut-Serum	cm. Aetherwasser	cm. Säure-Lauge	cm. Ammonsulfat	ge-samt-volumen Filtrates	cm. Lauge Säure	5 cm. Blut (Serum) werden neutralisirt durch cm. Säure N/10 Lauge	Alkaliesenzwerthe für 100 cm. in mgr. NaOH.
Schweineblut.	XXb	5	10	—	100	115	1,00 1/10 Säure C	2,243	179,4
	c	5	10	1/5 Lauge	100	125	»	2,21	— 176,8
	XXIa	5	10	1/5 Säure	100	135	1/10 Lauge C	14,07	1125,6
Rinderblut.	b	5	10	—	100	115	0,80 1/10 Säure C	1,840	147,2
	c	5	10	1/5 Lauge	100	125	»	3,34	— 267,2
	XXIIa	5	10	1/5 Säure	100	135	1/10 Lauge C	13,64	1091,2
Hammelblut.	b	5	10	—	100	115	0,60 1/10 Säure C	1,552	124,2
	c	5	10	1/5 Lauge	100	125	»	2,25	— 180,0
	XXIIIa	5	10	1/5 Säure	100	135	1/10 Lauge C	16,00	1280,0
Pferdeblut.	XXIVb	5	10	—	100	115	1,10 1/10 Säure C	2,357	188,6
	c	5	10	1/5 Lauge	100	125	»	1,75	— 140,0
	XXIVa	5	—	1/5 Säure	100	125	1/10 Lauge C	6,20	496,0
Pferdeblut-Serum.	b	5	—	—	100	105	0,75 1/10 Säure C	1,523	121,8
	c	5	—	1/5 Lauge	100	110	»	3,21	— 256,8
	XXXVIa	10	—	1/5 Säure	100	130	1/10 Lauge C	5,72	457,6
Pferdeblut-Serum.	b	10	—	Kein Zusatz	100	110	1,75 1/10 Säure C	1,186	94,88
	c	10	—	1/5 Lauge	100	120	»	0,84	— 67,2
	XXXVIIa	10	—	1/5 Säure	100	130	1/10 Lauge C	5,79	463,2
Pferdeblut-Serum.	b	10	—	Kein Zusatz	100	110	1,90 1/10 Säure C	1,323	105,84
	c	10	—	1/5 Lauge	100	120	»	— 0,645	+ 51,60
	XXXVIIIa	10	—	1/5 Säure	100	130	1/10 Lauge C	6,15	492,0
Pferdeblut-Serum	b	10	—	Kein Zusatz	100	110	2,25 1/10 Säure C	1,53	122,4
	c	10	—	1/5 Lauge	100	120	»	— 0,33	+ 26,4
	XXXVIIIa	10	—	1/5 Säure	100	130	1/10 Lauge C	6,15	492,0



Tabelle V. (Fortsetzung.)

Blutart	Versuchsnummer	cem. Blut-Serum	cem. Aetherwasser	cem. Säure / Lauge	cem. Ammonsulfat	Gesamtvolumen	cem. des Filtrates	Lauge / Säure	5 cem. Blut (Serum) werden neutralisirt durch cem. Säure / N/10 Lauge	Alkalinescenzwerthe für 100 cem. in mgr. NaOH.
Pferdeblut-Serum.	XXXIX a	10	—	20 1/5 Säure	100 gesättigt	130	50	11,00 1/10 Lauge C. 11,15	5,60	448,0
	b	10	—	Kein Zusatz	100 »	110	80	2,05 1/10 Säure C. 2,10	1,427	114,16
	c	10	—	10 1/5 Lauge	100 »	120	50	7,75 » 7,90	0,61	— 48,8
Pferdeblut-Serum.	XLa	10	—	20 1/5 Säure	100 gesättigt	130	50	10,50 1/10 Lauge C. 10,40	6,42	513,6
	b	10	—	Kein Zusatz	100 »	110	80	2,00 1/10 Säure C. 1,90	1,34	107,2
	c	10	—	10 1/5 Lauge	100 »	120	50	8,80 » 8,85	0,59	+ 47,2
Pferdeblut-Serum.	XLIa	10	—	20 1/5 Säure	100 gesättigt	130	50	10,70 1/10 Lauge C. 10,60	6,15	492,0
	b	10	—	Kein Zusatz	100 »	110	80	2,50 1/10 Säure C. 2,65	1,73	138,4
	c	10	—	10 1/5 Lauge	100 »	120	50	8,75 » 8,85	0,56	+ 44,8

Für Versuche XX—XXIV Ammonsulfatlösungen neutral.

Halbgesättigte Ammonsulfatlösung für Versuche XIV—XXIV neutral.

100 cem. der gesättigten Ammonsulfatlösung für Versuche XIV—XVII werden neutralisirt durch 0,40 cem. 1/10 Säure A.

100 cem. der gesättigten Ammonsulfatlösung für Versuche XVIII und XIX werden neutralisirt durch 2,30 cem. 1/10 Säure B.

Gesättigte Ammonsulfatlösung für Versuche XX—XXIV neutral.

der unter gleichen Bedingungen nicht wieder gefundenen Säure. Auf analoge Erscheinungen, die bei anderen Eiweisskörpern statthaben, soll weiter unten eingegangen werden.

Dass die Differenz in den nach den verschiedenen Methoden erhaltenen Werthen auf das vorhandene (durch Ammonsulfat fällbare) Eiweiss zurückzuführen ist, haben wir zunächst für das Blut dadurch zu erweisen gesucht, dass wir ein besonders klares Serum (von freiwillig geronnenem Pferdeblut decantirt) einerseits direkt, andererseits nach Ausfällung der Eiweisskörper titrirten. Bei der direkten Titration ergaben sich Schwierigkeiten, indem die gelbe Färbung auch des verdünnteren Serums den Farbumschlag nur sehr schwer erkennen lässt. Bei einiger Uebung konnte jedoch bei Anwendung des Förster'schen Lackmoidindicators der Neutralisationspunkt genügend scharf erkannt werden. Die Unterschiede der in beiden Fällen gefundenen Zahlen sind so gross, dass sie nicht von Titrirfehlern abhängen können. Zudem gibt die im zweiten Fall gefundene Zahl genau den Punkt an, bei dem im eiweisshaltigen Serum beim langsamen Zufügen der Säure die stärkste Trübung eintrat.

### Versuch XXV.

A. 5 ccm. farblosen Pferdeblutserums wurden unter starker Verdünnung mit Wasser (200—250 ccm.) direkt mit dem Förster'schen Indicator titrirt. Dazu wurden im Mittel verbraucht: 3,76 ccm.  $\frac{1}{10}$  Säure B. 10 ccm. desselben Serums ebenso titrirt erforderten 7,90 ccm.  $\frac{1}{10}$  Säure B. Hieraus berechnet sich für 100 ccm. Serum eine Alkaleszenz von **318,3** mgr. NaOH.

B. 10 ccm. desselben Serums wurden mit 150 ccm. gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt und je 50 ccm. des Filtrates titrirt. Hierbei wurden für 50 ccm. (Mittel aus drei Doppelbestimmungen) 0,725 ccm.  $\frac{1}{10}$  Säure B verbraucht. Hieraus berechnet sich die Alkaleszenz für 100 ccm. Serum zu **95,74** mgr. NaOH.

### D. Zusammenfassende Bemerkungen.

In den vorstehenden drei Kapiteln haben wir gezeigt, dass für die «Alkaleszenz des Blutes» ganz verschiedene Werthe erhalten werden, je nachdem man Verfahren A, B oder C anwendet. Von diesen drei Verfahren gibt, wie schon erörtert,



Tabelle VI.

Blutart	Versuchsnummer	cm. Blut-Serum	cm. Aether-wasser	cm. Säure / ccm. Lauge	ccm. Ammonsulfat	6c-sammal-volumen	cm. des Filtrates	Lauge ccm. Säure	5 ccm. Blut werden neutralisirt durch ccm. Säure N/10 Lauge	Alkaliscenzwerthe für 100 ccm. in mgr. NaOH.
Pferdeblut.	XVIII a	5	10	1/5 Säure	100	135	50	10,10 1/10 Lauge A	14,51	1160,8
	b	5	10	Kein Zusatz	100	115	50	1,55 1/10 Säure B	1,365	109,2
	c	5	10	1/10 Lauge	100	120	50	2,75	0,298	— 25,84
	d	5	10		100	125	50	4,00	1,532	— 122,6
	e	5	10	1/5	100	130	50	5,15	2,968	— 237,4
	f	5	10	20	100	135	50	5,00	4,324	— 345,9
Pferdeblut-Serum.	XIX a	5	10	1/5 Säure	100	135	50	13,25 1/10 Lauge A	6,35	508,0
	b	5	10	Kein Zusatz	100	115	50	1,15 1/10 Säure B	0,533	42,64
	c	5	10	1/10 Lauge	100	120	50	1,25		
	d	5	10	1/10 Lauge	100	125	50	2,70 1/10 Säure B		
	e	5	10	1/5	100	130	50	3,90	1,588	— 127,0
	f	5	10	20	100	135	50	5,15	2,284	— 182,7
Pferdeblut.	XXIII a	5	10	1/5 Säure	100	135	50	9,55 1/10 Lauge C	16,00	1280,0
	b	5	10	Kein Zusatz	100	115	50	1,10 1/10 Säure C	2,357	188,6
	c	5	10	1/5 Lauge	100	125	50	7,20	1,75	— 140,0
	d	5	10	20	100	135	50	7,40	4,62	— 369,6
	e	5	10	30	100	145	50	13,20	6,52	— 521,6
	XXIV a	5	—	20	100	125	50	13,25 1/10 Lauge C	6,20	496,0

Tabelle VI. (Fortsetzung.)

Blutart	Versuchsnummer	cm. Blut-Serum	cm. Aetherwasser	cm. Säure-Lauge	cm. Ammonsulfat	66-samml-volumen	cm. des Filtrates	Lauge cm. Säure	5 cm. Blut werden neutralisirt durch cm. Säure N/10 Lauge	Alkaleneszwerthe für 100 cm. in mgr. NaOH.
Pferdeblut-Serum.	XXIV b	5	—	Kein Zusatz	100	105	50	0,75 $\frac{1}{10}$ Säure C	1,523	121,8
	c	5	—	$\frac{1}{5}$ Lauge	100	110	50	»	1,09	— 87,2
	d	5	—	»	100	115	50	»	3,21	— 256,8
	e	5	—	»	100	120	50	»	4,89	— 391,2
Schweineblut.	XX a	5	10	$\frac{1}{5}$ Säure	100	135	50	9,55 $\frac{1}{10}$ Lauge C	15,93	1274,4
	b	5	10	»	100	115	50	1,00 $\frac{1}{10}$ Säure C	2,243	179,4
	c	5	10	$\frac{1}{5}$ Lauge	100	125	50	»	2,21	— 176,8
Rinderblut.	XXI a	5	10	$\frac{1}{5}$ Säure	100	135	50	10,20 $\frac{1}{10}$ Lauge C	14,07	1125,6
Rinderblut.	XXI c	5	10	$\frac{1}{5}$ Lauge	100	115	50	0,80 $\frac{1}{10}$ Säure C	1,840	147,2
	d	5	10	»	100	135	50	»	4,27	— 341,6
Hammelblut.	XXII a	5	10	$\frac{1}{5}$ Säure	100	135	50	10,35 $\frac{1}{10}$ Lauge C	13,64	1091,2
	b	5	10	»	100	115	50	0,60 $\frac{1}{10}$ Säure C	1,552	124,2
	c	5	10	$\frac{1}{5}$ Lauge	100	125	50	»	2,25	— 180,0
	d	5	10	»	100	135	50	»	4,96	— 396,8
	e	5	10	»	100	140	50	»	6,53	— 522,4
	f	5	10	»	100	145	50	»	5,07	— 405,6



nur B einen Werth, der dem entspricht, was man bis Löwy Alkalescenz des Blutes genannt hat und der die Alkalescenz der im Blutserum vorhandenen Carbonate und Phosphate oder, was wohl das Gleiche bedeutet, den Gehalt an «diffusiblem Alkali» anzeigt. Dass nicht alles im Blute wirklich vorhandene Alkali auf diesem Wege gefunden wird, geht aus den Versuchen des Kapitels C und denen des Abschnitt II hervor. Diese zeigen, dass ein Theil des zu einer eiweisshaltigen Flüssigkeit zugesetzten Alkalis sich mit diesem Eiweiss in irgend einer Art von Bindung befindet, so dass es bei Ausfällung durch Ammonsulfat mit dem Eiweiss zusammen ausgefällt wird. Man erhält also bei der Titration des Blutes nach Verfahren C eine Zahl, die abhängig ist nicht nur von der wirklich vorhandenen Menge Alkali, sondern auch von der vorhandenen Menge (und der Art) alkalibindender Eiweisskörper (subacider Stoffe Jaquet's). Da die an Eiweisskörper gebundenen Alkalien der Diffusion nicht zugänglich sind, so ist zu erwarten, dass unser Verfahren B die Menge des diffusiblen Alkalis angibt.

In der That stimmen die nach unserem Verfahren für die native Alkalescenz sich ergebenden Zahlen (vgl. Tab. VII) gut überein mit denen, die Gürber und Kraus (in seiner neuesten Arbeit s. u.) für diffusibles Alkali gefunden haben. Es enthalten nämlich nach Gürber 100ccm. Pferdeblutserum 192 mgr.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  = 123,8 mgr. NaOH, nach Kraus 100 ccm. Pferdeblutserum 175, Pferdeblut 218—225, Rinderblut 175 mgr. NaOH, während wir im Mittel eine native Alkalescenz für Pferdeblutserum von 110,3, für Pferdeblut von 158,4, für Rinderblut von 143,2 mgr. NaOH finden. Ganz anderer Art ist das, was wir durch die Methoden A und C erfahren. Für die hiermit erhaltenen Zahlen ist das vorhandene Eiweiss viel massgebender als für die nach Methode B gefundenen. Da bei A diejenige Quantität Säure titirt wird, welche einerseits durch die vorhandene Alkalescenz gesättigt, andererseits durch das vorhandene Eiweiss gebunden werden kann, erhalten wir durch die Zahl a einen Grenzwert für die säurebindende Kraft des Blutes, und  $a - b$  ist dann annähernd das Maass für die maximale Säure bindende Kraft der im Blute vorhandenen Eiweisskörper.

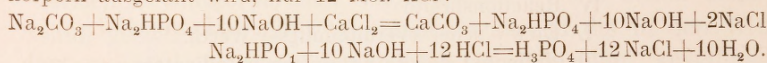
Nachdem schon Maly das Blut als eine theoretisch saure Flüssigkeit angesprochen hat, wies dann Friedrich Kraus auf einen im Blute vorhandenen alkalibindenden Factor hin, indem er die «Acidität des Blutes» nach Entfernung der Eiweisskörper mit Kaliumacetat und Alkohol zu bestimmen suchte. Unser Werth  $b + c$ , der durch Salzfällung einer mit Alkali übersättigten Eiweisslösung erzielbare Alkaliverlust, stellt etwas Anderes dar als Kraus' Acidität. Er setzt sich zusammen aus jener Menge Alkalivalenzen, die beim Alkalischemachen in Form von Ca- und Mg-phosphat oder -carbonat ausfallen, sodann aus jener Menge Alkali, die an Eiweiss gebunden in den Eiweissniederschlag übergeht. Um Verwechslungen mit der durch  $b$  gegebenen nativen Alkalescenz zu vermeiden, wollen wir diese Grösse als Basencapazität und dementsprechend als Säurecapazität des Blutes bezeichnen. Genügt der Ca- und Mg-Gehalt des Blutes, um nach Zusatz von Alkali sämtliche Kohlensäure und Phosphorsäure zu binden, so muss der hierdurch bedingte Alkaliverlust annähernd dem nativen Alkaligehalt entsprechen, beim Vorhandensein von Bicarbonat denselben sogar noch übertreffen.<sup>1)</sup>

1) Es mögen diese Verhältnisse durch die folgenden vier Schemen veranschaulicht werden:

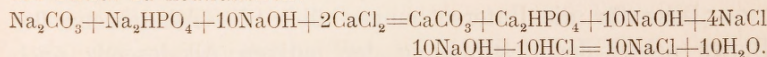
I. Ein äquimolekulares Gemenge von  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , das mit 10 Molekülen NaOH versetzt ist, verlangt nach Filtration zur Neutralisation 14 Moleküle HCl:



II. Dasselbe Gemenge verlangt bei Anwesenheit von 1 Mol.  $\text{CaCl}_2$  (resp.  $\text{MgCl}_2$ ), da sich dann  $\text{CaCO}_3$  abscheidet und mit den Eiweisskörpern ausgefällt wird, nur 12 Mol. HCl:



III. Bei Anwesenheit von 2 Mol.  $\text{CaCl}_2$  genügen 10 Mol. HCl, um das Filtrat zu neutralisiren:



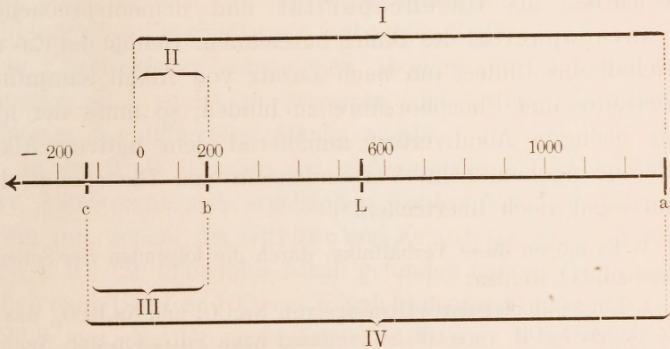
In diesem Falle wäre also die native Alkalescenz verschwunden, im Falle II nur zur Hälfte.

IV. 1 Mol. Bicarbonat und 10 Mol. NaOH verlangen zur Neutralisation 11 Mol. HCl, bei Gegenwart von 1 Mol.  $\text{CaCl}_2$  jedoch nur 9 Mol. HCl.

Für Bicarbonat und saures Phosphat wäre dann der Alkaliverlust doppelt so gross als die native Alkalescenz.



Die Bedeutung der einzelnen analytischen Daten ist am besten aus vorstehendem Schema zu entnehmen. Bezeichnet der Nullpunkt den neutralen Punkt für unseren Indicator und tragen wir die Alkaleszenz- resp. Säurewerthe auf der geraden *ac* ausgedrückt in mgr. NaOH auf, so fallen z. B. für Versuch XXIII die Werthe für native Alkaleszenz mit Punkt *b*, die maximale Säurecapacität mit Punkt *a* und die Basencapacität auf der negativen Linie mit Punkt *c* zusammen. Die Strecke *ba* gibt dann die Säurecapacität der Eiweisskörper an und die von Löwy gefundenen Werthe stellen Punkte auf dieser dar; *ac* zeigt an, innerhalb welcher Grenzen, «Reactionsbreite», Alkalien resp. Säuren neutralisirt werden können.



- I Maximale Säurecapacität des Blutes.
- II Native Alkaleszenz > >
- III Maximale Basencapacität > >
- IV Reactionsbreite > >
- L Löwy'scher (Verdünnungs-) Werth.
- 0 Nullpunkt des Förster'schen Indicators.

Dass für die Untersuchungen über die Alkaleszenz des Blutes neben der Bestimmung der nativen Alkaleszenz auch die der maximalen Säure- und Basencapacität wichtig ist, braucht nach dem oben Ausgeführten wohl nicht erst ausführlich erörtert zu werden, denn wir haben ja gezeigt, dass der Werth für die native Alkaleszenz abhängig ist von den meist

noch in der Blutflüssigkeit enthaltenen Affinitäten für Basen oder Säuren. In der That haben uns dies auch Thierversuche bestätigt, über die demnächst berichtet werden soll.

Während, wie erwähnt, die Zahlen *b* in unserer Versuchsanordnung denjenigen entsprechen, welche Gürber mit seiner Diffusionsmethode erhalten hat, sind diejenigen unserer Versuchsanordnung *a* offenbar mit denjenigen Löwy's vergleichbar. Wenn wir freilich bei unseren Versuchen Zahlen erhalten haben, die noch höher liegen als diejenigen Löwy's, so ist hierauf offenbar der von uns angewendete Ueberschuss an Säure, wie auch experimentell gezeigt (siehe Tabelle III), vielleicht auch die Wahl der benutzten Säure von Einfluss gewesen: dort die schwach dissociirte Weinsäure, bei uns die stark dissociirte Schwefelsäure. Versuche über den Einfluss des Dissociationsgrades der zugesetzten Säuren und Basen auf die Capacität der Eiweisskörper für dieselben sollen dies weiterhin aufklären.

Vergleicht man endlich die für native Alkalescenz, Säure- und Basencapacität gefundenen Werthe, welche bei Untersuchung des Gesamtblutes und Serums eines und desselben Thieres erhalten wurden, wobei der Uebersichtlichkeit halber auch die Säurecapacität in mgr. NaOH ausgedrückt ist (vergleiche Versuch XVIII und XIX), so findet man zunächst in Uebereinstimmung mit Löwy und Gürber auch nach unserer Methode, dass für Säurecapacität und native Alkalescenz im Gesamtblut höhere Werthe gefunden werden, als im Serum, dass umgekehrt aber für die Basencapacität im Serum höhere Zahlen erhalten werden, als im Gesamtblut. Zu den mannigfachen Differenzen zwischen Blutkörperchen und Serum, welche schon bekannt sind, gesellt sich somit ein neuer: während die in den Blutkörperchen vorhandenen durch Ammonsulfat ausfällbaren Eiweisskörper eine grössere Capacität für Säuren haben, besitzen umgekehrt dieselben im Serum eine hohe Capacität für Basen (vergleiche Versuch XVIII und XIX).

Als die vorliegenden Untersuchungen bereits abgeschlossen und niedergeschrieben waren, gelangte eine Arbeit von Friedrich Kraus «Ueber die Vertheilung der Kohlensäure im Blute» (Festschrift, Graz 1898) zu unserer Kenntniss, deren



Tabelle VII.

Versuchsnummer	Blutart	Maximale Säurecapacität für 100 ccm. in mgr. NaOH a	Native Alkalescenz für 100 ccm. in mgr. NaOH b	Von Eiweiss abhängige Säurecapacität für 100 ccm. in mgr. NaOH a-b	Basencapacität für 100 ccm in mgr. NaOH b+c	
VIII	Schweineblut	1322,4				
IX		1270,4				
XIV		1162,4	116,8	1045,6		
XX		1274,4	179,4	1095,0	356,3	
VII	Rinderblut	1224,0				
XV		1163,2	139,1	1024,1		
XXI		1125,6	147,2	978,4	414,4	
XVI	Hammelblut	1038,4	110,4	928,0		
XXII		1091,2	124,2	967,0	304,2	
IV	Pferdeblut	1734,4				
V		1575,2				
VI		1753,6				
XI		1296,8				
XVII		1399,2	177,5	1121,7		
XVIII		1160,8	109,2	1051,6	455,1	
XXIII		1280,0	188,6	1091,4	328,6	
XII		Pferdeblutserum	402,4			
XIII				145,0		
XIX	508,0		42,64	465,36	514,3	
XXIV	496,0		121,8	374,2	378,6	
XXXVI	457,6		94,88	362,72	162,08	
XXXVII	463,2		105,84	357,36	54,24	
XXXVIII	492,0		122,4	369,6	96,0	
XXXIX	448,0		114,16	323,84	162,96	
XL	513,6		107,2	406,4	60,00	
XLI	492,0		138,4	353,6	93,6	
XXVIII	Kaninchenblut		1118,4	204,0	914,4	395,84
XXIX		1073,6	171,0	902,6	171,0	
XXX		918,4	123,3	795,1	261,12	
XXXI			144,7		242,08	
XXXIII		1032,0	215,8	816,2	211,04	
XXXIV		1100,8	207,52	892,3	207,52	
XXXIII	Hundeblut	1225,6	130,4	1095,2	228,3	

II. Kapitel über «Die Alkaleszenz des Serums und der rothen Blutkörperchen» handelt. Die von Kraus dort zur Alkaleszenzbestimmung angewandte Methode ist der von uns zur Ermittlung der nativen Alkaleszenz benutzten, die ganz unabhängig davon entstanden ist, ähnlich: er macht das zu untersuchende defibrinirte Blut durch Hinzufügen von 2—4 ccm. Aether lackig, entfernt dann den grössten Theil des Aethers wieder bei 40° und versetzt hierauf eine genau abgemessene Menge des lackfarbenen Blutes mit dem vierfachen Volumen einer gesättigten Ammonsulfatlösung. Das von uns zur Bestimmung der nativen Alkaleszenz angewandte Verfahren gestaltet sich wesentlich einfacher und ermöglicht auch, bei Kühlung des Aetherwassers durch Eis und Abwiegen der Blutmenge, dessen Anwendung für frisches Blut.

Auch Kraus kommt zu dem Schlusse, dass die nach einem derartigen Verfahren gewonnenen Zahlen jedenfalls der wahren Alkaleszenz des Blutes mehr entsprechen, als diejenigen, welche man nach Löwy's Methode erhält. Er stützt sich hierbei auf die gute Uebereinstimmung seiner Zahlen mit solchen, die sich aus Aschebestimmungen von Bunge und Abderhalden berechnen lassen. Wie schon erwähnt, stimmen Kraus' Werthe auch mit den unserigen gut überein. Ferner hat auch Kraus bei dieser Gelegenheit Beobachtungen gemacht, die eine erhöhte Basencapacität des Blutes darzulegen geeignet sind, dieselben jedoch nicht weiter verfolgt. Wir finden daher bei Kraus sowohl wie auch in der oben citirten, ganz neu erschienenen Arbeit von Hamburger Methoden zur Bestimmung der nativen Alkaleszenz des Blutes; beide behandeln jedoch die Gesamtbreite der Reaction des Blutes nicht ausführlicher. Die Frage, inwieweit bei Beurtheilung der physiologischen Leistung des Blutes neben der nativen Alkaleszenz des Blutes auch die Basen- und Säurecapacität desselben in Betracht kommen, soll bei Mittheilung unserer einschlägigen Thierversuche eingehender behandelt werden.



## II.

### Ueber das Säure- und Basenbindungsvermögen der Eiweisskörper.

Aus den vorstehend mitgetheilten Versuchen geht wohl in unzweideutiger Weise hervor, dass die Eiweisskörper des Blutes Basen und Säuren zu binden im Stande sind. Nun sind in der Litteratur schon seit längerer Zeit — die ältesten Angaben rühren von C. Schmidt und Mulder her — über das Säurebindungsvermögen der Eiweisskörper Beobachtungen mitgetheilt worden, die in neuester Zeit von Sjöqvist und Cohnheim quantitativ ausgeführt und jüngst auch von St. Bugarszky und Liebermann auf Basen ausgedehnt worden sind. In ähnlicher Versuchsanordnung wie wir hat bereits vor Jahren Herth gefunden, dass bei Fällung von «Hemialbumose» mit neutraler Salzlösung ein Theil der Säure mit der Albumose ausgeschieden wird.

Wir haben, um die allgemeine Anwendbarkeit unserer Methode zu prüfen und um festzustellen, ob auch andere Eiweisskörper sich wie diejenigen des Blutes verhalten; zunächst nur Versuche mit Casein, Eierweiss und Serumalbumin gemacht, die, wie die Protokolle zeigen, eine vollkommene Uebereinstimmung mit den am Blute gemachten Erfahrungen ergaben. Wir konnten nämlich auch hier nicht nur im Allgemeinen ein Säure- und Basenbindungsvermögen (Säure- und Basencapazität) feststellen, sondern auch hier wie oben für das Blut bestätigen, dass mit steigenden Quantitäten die in Bindung gehende Menge, Säure oder Base bis zu einem Grenzwert wächst und dass ferner ebenfalls die Capacität für Säuren grösser ist als für Basen. Auf diese Verhältnisse soll auf Grund einer grösseren Anzahl neuer Versuche später zurückgekommen werden.

### Versuch XXVI.

Abgewogene Mengen reinsten Caseins wurden in ein Kölbchen eingewogen, in abgemessener Quantität  $\frac{1}{5}$  Normal-lauge gelöst, mit 125 ccm. gesättigter Ammonsulfatlösung gefällt, auf 250 ccm. verdünnt, und aliquote Theile des Filtrates zurücktitrirt.





b) 5 ccm. Eiweiss, 20 ccm. Wasser, 225 ccm. ges. Ammonsulfat.

50 ccm. des Filtrates = 0,55 ccm. N/10 Säure	} d. i. pro 1 ccm. Eiweiss eine native Alkaleszenz von 2,2 mgr. NaOH.
50 » » » = 0,55 » » »	
50 » » » = 0,60 » » »	
50 » » » = 0,55 » » »	

Hieraus ergibt sich für **1 ccm. Eiweiss = 5,10 mgr. NaOH Säurecapacität.**

c) 5 ccm. Eiweiss, 20 ccm. N/10 Lauge, 25 ccm. Wasser, 200 ccm. ges. Ammonsulfat.

50 ccm. des Filtrates = 3,90 ccm. N/10 Säure	} d. i. pro <b>1 ccm. Eiweiss</b> eine Basencapacität (b + c) von <b>2,45 mgr. NaOH.</b>
50 » » » = 3,90 » » »	
100 » » » = 7,95 » » »	

### Versuch XXXV.

Je 10 ccm. einer 1,069<sup>0/0</sup>igen neutralen Lösung krystallisirten Serumalbumins (Eiweissgehalt berechnet nach zwei übereinstimmenden Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl) wurden mit steigenden Mengen Säure bzw. Lauge versetzt, mit Ammonsulfat gefüllt und aliquote Theile des Filtrates zurücktitrirt.

a) Bestimmung der Säurecapacität.

1. 10 ccm. Eiweisslösung, 10 ccm.  $\frac{1}{5}$  Säure, 100 ccm. ges. Ammonsulfat.

α) 30 ccm. des Filtrates = 4,50 ccm. N/10 Lauge.

30 » » » = 4,40 » » »

30 » » » = 4,45 » » »

β) 30 » » » = 4,40 » » »

30 » » » = 4,45 » » »

30 » » » = 4,45 » » »

2. 10 ccm. Eiweisslösung, 15 ccm.  $\frac{1}{5}$  Säure 100 ccm. ges. Ammonsulfat.

α) 50 ccm. des Filtrates = 11,25 ccm. N/10 Lauge.

50 » » » = 11,25 » » »

β) 50 » » » = 11,40 » » »

50 » » » = 11,25 » » »

3. 10 ccm. Eiweisslösung, 20 ccm.  $\frac{1}{5}$  Säure, 100 ccm. ges. Ammonsulfatlösung.

α) 50 ccm. des Filtrates = 14,75 ccm. N/10 Lauge.

50 » » » = 14,85 » » »

β) 50 » » » = 14,85 » » »

50 » » » = 14,95 » » »

b) Bestimmung der Basencapacität.

1. 10 ccm. Eiweisslösung, 5 ccm.  $N/5$  Lauge, 100 ccm. ges. Ammon-  
sulfatlösung.

α) 50 ccm. des Filtrates = 3,85 ccm.  $N/10$  Säure.

50 > > > = 3,90 > > >

β) 50 > > > = 4,10 > > >

50 > > > = 4,05 > > >

2. 10 ccm. Eiweisslösung, 10 ccm.  $N/5$  Lauge, 100 ccm. ges. Ammon-  
sulfatlösung.

α) 50 ccm. des Filtrates = 7,65 ccm.  $N/10$  Säure.

50 > > > = 7,70 > > >

β) 50 > > > = 7,65 > > >

50 > > > = 7,60 > > >

Aus a und b berechnet sich für **1 gr. krystallisirtes Serumalbumin** eine Säurecapacität von **112,3**, bzw. **114,1** und **114,5** mgr. NaOH und eine Basencapacität von **32,2** bzw. **61,4** mg. NaOH.

Es tritt hierdurch mit Deutlichkeit hervor, dass in jedem Eiweiss, auch solchem, das sich indifferent zu verhalten scheint, Gruppen enthalten sind, welche basischen resp. sauren Charakter besitzen.

Die von uns in den vorstehenden Versuchen angewandte Methode erscheint uns geeignet, diese Verhältnisse qualitativ und quantitativ zu studiren, und es wird unsere Aufgabe sein, unsere Untersuchungen auf reine Eiweisskörper und deren Spaltungsprodukte auszudehnen, zumal ja auch histologische Erfahrungen auf Differenzen in dieser Richtung bei den verschiedenen Zellbestandtheilen hinweisen (acidophile und basophile Farbstoffe).

Ferner geht aus unseren Untersuchungen hervor, dass man das Eiweiss indes nicht wohl als eigentliche Säure oder Base ansprechen kann. Auf Grund der Erfahrungen über Leitfähigkeit und Jonisation müsste die Lösung einer Base, die so viel Säure zu binden vermag wie das lackfarbene Blut, ein trefflicher Leiter sein, während reines Eiweiss auch nach den neuesten Erfahrungen ein ganz schlechter Leiter ist. Auch die Art, wie der Neutralisationsvorgang statthat, spricht dagegen, den Vorgang als einer einfachen Salzbildung entsprechend anzusehen.

Wie wir beobachteten, findet bei Zusatz einer bestimmten Säuremenge, die im Stande wäre, sämtliche alkalische Affini-



täten zu sättigen, doch keine vollständige Sättigung statt, sondern nur bis zu einem bestimmten Gleichgewichtszustand, dagegen wird erst bei Vorhandensein eines gewissen Ueberschusses an Säure die vollständige Sättigung erreicht (s. Versuch IV und VI). Es handelt sich hier wahrscheinlich um einen Vertheilungsvorgang, ähnlich dem der Ausätherung resp. dem bei der Aufnahme von Jod aus einer Jodjodkaliumlösung durch Stärke.

Will man sich auf Grund der modernen vant' Hoff-Arrhenius'schen Anschauungen diese Verhältnisse erläutern, so kann man das Eiweiss zu jenen Körpern rechnen, welche zwar electricisch geladen, aber nicht ionisirt sind, und die, weil sie zwei verschiedene electricische Ladungen besitzen, zwar nicht als Basen oder Säuren selbst fungiren, aber doch im Stande sind, mit diesen additionelle Verbindungen einzugehen.

---

### Litteratur-Verzeichniss.

1. E. Abderhalden, Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. XXIII, S. 521. Zur quantitativen Analyse des Blutes.
2. St. Bugarszky und L. Liebermann, Ueber das Bindungsvermögen eiweissartiger Körper für Salzsäure, Natriumhydroxyd und Kochsalz. Pflüger's Archiv. Bd. 72, S. 51. 1898.
3. Bunge, Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie, S. 222.
4. Cohnheim, Ueber das Salzsäurebindungsvermögen der Albumosen und Peptone. Zeitschr. f. Biologie. Bd. 33, S. 489. 1897.
5. Drouin, R., Hémot-Alcalimétrie etc. Paris, Steinheil 1892. Dasselbst die ältere Litteratur.
6. Förster, Landwirthschaftl. Versuchsstation. Bd. 38.
7. Fr. Goldschmidt, Ueber die Einwirkung von Säuren auf Eiweiss. Inaug.-Dissertation. Strassburg, 1898.
8. Gürber, Ueber die Salze des Blutes, Sitzungsberichte der phys.-med. Ges. zu Würzburg, 25. Febr. 1895.
9. Hamburger, Archiv f. Physiol. 1898. Eine Methode zur Trennung und quantitativen Bestimmung des diffusiblen und nichtdiffusiblen Alkalis in serösen Flüssigkeiten. Derselbe ebenda 1892.
10. Herth, Untersuchungen über die Hemialbumose oder das Propepton. Sitz.-Ber. der Wiener Akad. Bd. XC., S. 10. 1884.

11. v. Jaksch, *Klin. Diagnostik* 2. Aufl. 1889, S. 3 (auch *Zeitschr. f. klin. Medicin.* Bd. XIII).

12. A. Jaquet, Ueber die Wirkung mässiger Säurezufuhr auf Kohlensäuremenge, Kohlensäurespannung und Alkalescenz des Blutes. *Archiv f. exp. Path. u. Pharmakol.* Bd. XXX, S. 311. 1892.

13. Fr. Kraus, Ueber die Alkalescenz des Blutes und ihre Aenderung durch Zerfall der rothen Blutkörperchen. *Archiv f. exp. Path. und Pharmak.* Bd. XXVI, S. 186. 1889.

Ueber die Vertheilung der Kohlensäure im Blute, *Festschrift, Graz, Leuschner und Lubensky*, 1898.

14. Landois, *Eulenburg's Real-Encyclopädie.* Bd. III. Artikel Blut.

15. Lassar, *Pflüger's Archiv.* Bd. IX, S. 45. 1874.

16. C. Lehmann, Untersuchungen über die Alkalescenz des Blutes und speciell die Einwirkung der Kohlensäure darauf. *Pflüger's Archiv.* 1894. Bd. 58, S. 428.

17. R. R. v. Limbeck, *Grundriss der klin. Pathologie des Blutes.* 2. Aufl. 1896, S. 50. *Wiener Med. Blätter* 1895, Nr. 19.

18. Löwy, Untersuchungen zur Alkalescenz des Blutes. *Pflüger's Archiv.* Bd. 64. S. 462. Vgl. ebenda (mit Zuntz) S. 507 und 511. 1894.

19. R. Maly, Untersuchungen über die Mittel zur Säurebildung im Organismus. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* Bd. I, S. 174. 1877.

20. Hans Meyer, Studien über die Alkalescenz des Blutes. *Archiv für experiment. Path. u. Pharmakol.* Bd. XVII. p. 304. 1883 (und die Dissertation von Feitelberg. *Dorpat* 1883). Vgl. auch Hans Meyer, Ueber Phosphor, ebenda Bd. XIV, S. 313. 1881.

21. Mulder, Versuch einer allgem. physiol. Chemie. *Braunschweig* 1851.

22. C. Schmidt, Ueber das Wesen des Verdauungsprocesses. *Liebig's Annalen.* Bd. 61, S. 311. 1847.

23. C. Schultz-Schultzenstein, *Centralblatt f. med. Wissenschaften* 1894, S. 801. Vorläufige Mittheilung über eine klinische Methode zur Bestimmung der Alkalescenz des Blutes.

24. John Sjöqvist, Physiologisch-chemische Beobachtungen über Salzsäure. *Skandin. Archiv für Physiologie.* Bd. V, S. 277. 1895.

25. Tauszk, *Ungar. Archiv f. Medicin.* Bd. III, S. 359. 1895.

26. Friedr. Walter, Wirkung der Säuren auf den thier. Organismus. *Archiv f. exp. Path. u. Pharmakol.* Bd. VII, S. 148. 1877.

27. Winternitz, Beiträge zur Alkalimetrie des Blutes. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* Bd. XV, S. 505. 1891.

28. N. Zuntz, Beiträge zur Physiologie des Blutes. *Dissert. Bonn*, 1868. *Hermann's Handbuch*, Bd. IV, «Blut». Vgl. auch Löwy.