

# Über die Wertigkeit des Metalles in den Blutfarbstoffen und die Bestimmung ihres Gasbindungsvermögens.

Eine kritische Studie

von

**Wilhelm Manchot.**

(Aus dem chemischen Institut der Universität Würzburg).

(Der Redaktion zugegangen am 23. November 1910.)

## Inhalt.

1. Über Hüfners Untersuchung über die Aufnahme von Stickoxyd durch Lösungen von Ferro-, Nickelo-, Kobalto- und Manganosalzen. — 2. Bemerkungen zur Hüfnerschen Methodik. — 3. Über die Bestimmung des Gasbindungsvermögens von Blutfarbstoffen und Metallsalzen. — 4. Über die Wertigkeit des Eisens im Blutfarbstoff. — 5. Über die Wertigkeit des Kupfers im Hämocyanin.

Kürzlich hat W. Küster<sup>1)</sup> in dieser Zeitschrift Beiträge zur Kenntnis des Blutfarbstoffes publiziert, in denen er die Ansicht aufstellt, daß das Hämoglobin wie das Hämochromogen eine Ferroverbindung sei.

Im Gegensatz hierzu habe ich aus meinen Versuchen den Schluß gezogen, daß der Blutfarbstoff das Eisen in der Ferriform enthält.<sup>2)</sup>

Zu meiner Überraschung glaubt nun Küster gerade meine früheren Arbeiten als Stütze für seine Anschauung, daß das Hämoglobin eine Ferroverbindung sei, benutzen zu können und er weist insbesondere auf die Arbeit von Manchot und Zechentmayer<sup>3)</sup> hin, nach der das Additionsvermögen der Ferroverbindungen gegenüber Stickoxyd durch den Betrag von einem Molekül NO pro Atom Eisen gegeben ist.

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXVI, S. 165 (1910).

<sup>2)</sup> Liebigs Ann., Bd. CCCLXXII, S. 185 (1910).

<sup>3)</sup> Liebigs Ann., Bd. CCCL, S. 368 (1906).

Ist diese Stellungnahme Küsters mit meinen Arbeiten für sich allein schon unvereinbar, so wird sie durch den Zusatz: «Auch Hüfner ist auf Grund analoger Untersuchungen zu dem gleichen Resultat gelangt», zu einer vollständigen Verkenntung des wirklichen Sachverhalts, da von einer «Analogie» zwischen Hüfners und meinen Versuchen nicht die Rede sein kann.

Es erscheint mir daher zweckmäßig, das Verhältnis meiner Versuche zu denjenigen früherer Bearbeiter dieses Gebietes etwas ausführlicher auseinanderzusetzen. Dies hat insofern meines Erachtens wohl auch ein allgemeineres Interesse, wie ich auch aus einigen mir brieflich zugegangenen Äußerungen schließe, als sich bei einer solchen Besprechung Anhaltspunkte dafür ergeben, bis zu welchem Grade die nach der Methodik Hüfners gewonnenen Ergebnisse auch fernerhin zur Argumentation gegenüber abweichenden Resultaten anderer Forscher benutzt werden können. Zugleich möchte ich einige Gesichtspunkte und Unterscheidungen hervorheben, deren Beachtung, wie ich glaube, für die Zukunft zur Vermeidung von Mißverständnissen und Verwirrungen auf diesem Gebiete von Vorteil sein würde.

Wenn es hierfür nötig ist, die Methodik Hüfners kritisch zu betrachten, so möchte ich voranschicken, daß es mir fern liegt, die Bedeutung seiner Forschungen für die Entwicklung unserer Kenntnisse in der Vergangenheit herabzusetzen. Ist es doch das Schicksal aller naturwissenschaftlichen Erkenntnis, von dem Fortschritt, den sie vorbereiten half, selbst einmal überholt zu werden.

### 1. Hüfners Untersuchung über die Aufnahme von Stickoxyd durch Lösungen von Ferro-, Kobalto-, Nickel- und Manganosalzen.<sup>1)</sup>

Gleich zu Anfang dieser Arbeit bemerkt Hüfner, worauf sich auch wohl Küsters Bemerkung gründet, daß er bezüglich der Ferroverbindungen zu dem gleichen Resultat wie Manchot und Zechentmayer gelangt sei. Sieht man aber näher zu,

<sup>1)</sup> Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. LIX, S. 416 (1907).

so erkennt man alsbald, daß diese Behauptung Hüfners nicht zutrifft, sondern daß ihm ein solches Ergebnis nur durch die verwickelte Art, mit der er das Problem angriff, vorgetäuscht wurde.

Hüfner stellt die Resultate seiner Versuche mit Ferro-sulfat und Stickoxyd in der folgenden Tabelle zusammen (a. a. O. S. 420):

| Nr. | In 205,69 ccm<br>gelöstes Eisen<br>g | Stickoxyd<br>in ccm<br>vom Eisen<br>verlangt | Stickoxyd in ccm<br>für 760 mm aus<br>den Beobachtungen<br>berechnet | Stickoxyd in ccm<br>vom<br>reinen Wasser<br>absorbiert |
|-----|--------------------------------------|--|--|--|
| 1   | 0,0221                               | 8,82   | 15,33  | 9,6798   |
| 2   | 0,0296                               | 11,81  | 15,57  | —  |
| 3   | 0,0409                               | 16,36  | 18,50  | —  |
| 4   | 0,0513                               | 20,46  | 21,33  | —  |
| 5   | 0,0663                               | 26,45  | 23,32  | —  |
| 6   | 0,0990                               | 39,49  | 37,40  | —  |

und bemerkt hierzu: «Wie man sieht, macht sich bei geringer Eisenkonzentration die Absorption des Stickoxydes durch das Wasser noch auffallend geltend: denn die Gesamtmenge des aufgenommenen Stickoxyds ist hier größer, als die vom vorhandenen Eisen allein verlangte. Mit wachsender Eisenkonzentration wird indessen die Wasserkomponente — so möge der vom Wasser absorbierte Anteil um der Kürze willen bezeichnet sein — offenbar der allgemeinen Regel folgend, immer kleiner und kleiner, bis bei etwa 54 mg Eisengehalt die gefundene Gesamtmenge mit der verlangten übereinstimmt, um von da ab hinter der letzteren zurückzubleiben.»

Hüfner glaubt also einen Einfluß der Eisenkonzentration auf die Menge des gebundenen Stickoxydes feststellen zu können, durch welchen bei abnehmender Eisenkonzentration die NO-Bindung zunimmt und sich somit der Grenze von einem Molekül nähert. Aber dies ist ein Trugschluß.

Denn auch die konzentrierteste seiner Eisenlösungen (enthaltend 0,48 g Fe in 1000 ccm, d. i. 0,0086 norm.) ist bereits so verdünnt, daß weitere Verdünnung keine Wirkung mehr hat. Wie aus den Versuchen von Zechentmayer bereits zu

erkennen ist und durch neuere Versuche von Huttner<sup>1)</sup> bestätigt wird, tritt, mindestens von der Konzentration 0,03 norm. ab, wenn nicht schon früher, eine Wirkung weiterer Verdünnung überhaupt nicht mehr auf. Daß die von Hüfner angenommene Wirkung der Verdünnung tatsächlich gar nicht vorhanden ist, erkennt man aber auch aus seinen eigenen Zahlen durch eine einfache Umrechnung, wenn man nämlich seine Absorptionen zur besseren Übersicht auf ein Grammatom (55,9) Eisen umrechnet. Hierfür muß zunächst die Löslichkeit des Stickoxydes von den beobachteten Absorptionen abgezogen werden. Diese ist aber, da auch die konzentrierteste Lösung Hüfners nur ca. 0,35 g Ferroammonsulfat in 100 ccm enthält, ohne merklichen Fehler gleich der von Wasser zu setzen. (Nebenbei bemerkt, kommt es aber nicht einmal darauf an, ob dieser Wert ein wenig zu groß ist, als vielmehr darauf, daß für alle Versuche Hüfners der gleiche Wert dieser Löslichkeit einzusetzen ist, da ja weitere Verdünnung nach dem obigen keine Wirkung mehr hat.) Es stellen sich dann die Resultate Hüfners in folgender Weise dar:

| Nr. | g Eisen | Gebundenes Stickoxyd                           |
|-----|---------|--|
| 1   | 0,0221  | 15,3 — 9,7 = 5,6 ccm oder 14,1 l auf 55,9 g Fe |
| 2   | 0,0296  | 15,6 — 9,7 = 5,9 » » 11,1 » » 55,9 » »         |
| 3   | 0,0409  | 18,5 — 9,7 = 8,8 » » 12,0 » » 55,9 » »         |
| 4   | 0,0513  | 21,3 — 9,7 = 11,6 » » 12,6 » » 55,9 » »        |
| 5   | 0,0663  | 23,3 — 9,7 = 13,6 » » 11,5 » » 55,9 » »        |
| 6   | 0,0990  | 37,4 — 9,7 = 27,7 » » 15,6 » » 55,9 » »        |

Die Werte Hüfners zeigen also keineswegs eine Zunahme mit der Verdünnung, sondern schwanken ganz unregelmäßig auf und ab. Diese Schwankungen sind nichts weiter wie Versuchsfehler. Mein Assistent Dr. Withers erhielt nach dem von mir auch früher benutzten Absorptionsverfahren mit den Eisenkonzentrationen 0,0026 norm. und 0,0086 norm., welche den Versuchen Nr. 2 und Nr. 6 von Hüfner entsprechen, folgende Werte für praktisch gleiche Temperatur- und Druck-

<sup>1)</sup> Liebigs Ann., Bd. CCCLXXII, S. 157 (1910).



verhältnisse (Versuchstemperatur  $19,4^{\circ}$ , Druck [feucht] 753 mm für Nr. 2, 754 mm für Nr. 6, Hüfner  $20^{\circ}$  760 mm. Die belanglose Temperaturdifferenz hätte uns eher größere wie kleinere Werte als Hüfner geben müssen<sup>1)</sup>)).

| Nr. | Eisenkonzentration | Gebundenes Stickoxyd                   |
|-----|--------------------|--|
| 2   | 0,0026 norm.       | 9,9 l auf ein Grammatom (55,9 g) Eisen |
| 6   | 0,0086 »           | 10,0 » » » » (55,9 »)                  |

Diese Werte sind untereinander praktisch identisch und bestätigen, daß innerhalb der von Hüfner angewandten Konzentrationsgrenzen eine Wirkung zunehmender Verdünnung nicht vorhanden ist. Ebenso ergibt sich bezüglich der Druckwirkung, daß sie innerhalb des kleinen Intervalls 710—550 mm, welches Hüfner verfolgt, viel zu unbedeutend ist, um einen bestimmten Schluß zu rechtfertigen, zumal bei Druckabnahme ja noch weniger NO gebunden wird, man also noch weniger als den vorstehenden mit seinen 10 l noch nicht die Hälfte von 1 Mol. (= 22,4 l) NO auf 1 Fe erreichenden Wert erhält.

Die Schlußfolgerung Hüfners, es folge aus seinen Versuchen, daß 1 Mol. NO auf 1 Fe gebunden werde, steht also ganz in der Luft.

Bezüglich der Versuchsfehler ist zu bemerken, daß die großen Flüssigkeitsmengen, welche Hüfner anwandte — die auch bei seinen früheren Versuchen mit Blutfarbstoffen anzutreffen sind — und das durch sie verursachte ungünstige Verhältnis zwischen gebundener und nur gelöster Gasmenge die Erzielung genauer Resultate erschweren. In der Tat erscheinen die Fehler der Hüfnerschen Werte schon gegenüber dem eigenen Mittelwert (12,8) auffallend groß. Es muß noch hinzugefügt werden, daß ich die von Hüfner behauptete Eigenschaft wässriger Nickelsulfat-, Kobaltsulfat- und Manganchlorür-lösungen, Stickoxyd zu binden, welche er aus Versuchen gleicher Art herleitet, und die nach ihm bei Kobalt und Nickel sogar noch größer als beim Eisen sein soll, überhaupt nicht wahr-

<sup>1)</sup> Vgl. M. und Zechentmayer a. a. O.

nehmen konnte. Für diese drei Salze bleibt es also ganz rätselhaft, wie Hüfner zu seinen Angaben gelangt ist.

## 2. Bemerkungen zur Hüfnerschen Methodik.

Es erscheint einigermaßen überraschend und auch mich selbst hat es überrascht, daß die von Hüfner für die Bestimmung des Gasbindungsvermögens von Blutfarbstoffen früher anscheinend mit Erfolg angewandte Methode, als sie zum erstenmal auf eine einfache chemische Substanz wie das Ferrosulfat angewandt wurde, so vollkommen versagte. Die Ursache hierfür liegt aber nur darin, wie sich bei näherem Zusehen ergibt, daß der Hüfnerschen Methode schon in der Form, wie sie auf Blutfarbstoffe angewandt wurde, die gleichen Mängel anhaften, welche nur in dem Fall des Ferrosulfats auffallender hervortreten.

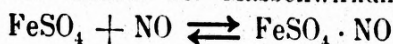
Hüfner geht stets von der folgenden Überlegung aus: Die von einem Blutfarbstoff oder Metallsalz dieses Typus aufgenommene Gasmenge besteht aus einem chemisch gebundenen Teil  $a$  und einem nur physikalisch gelösten Teil  $b$ , der vom Druck abhängig ist. Daraus ergibt sich für ihn die Gleichung

$$v = a + bp$$

gleiche Temperatur und Konzentration der Lösung vorausgesetzt. Eine Reihe bei verschiedenen Drucken angestellter Absorptionsversuche mußte also Werte für  $v$  liefern, aus denen sich die Konstanten  $a$  und  $b$  berechnen lassen.<sup>1)</sup>

Hierbei ist nun übersehen, daß eben  $a$ , d. h. der chemisch gebundene Anteil, von dem nur gelösten Anteil  $b$  in einer zunächst unbekanntem Weise abhängig ist.  $a$  ist also keine Konstante, sondern ebenso wie  $b$  eine Unbekannte.

Durch die Annahme, daß  $a$  vom Drucke unabhängig sei, wird aber gerade das wesentlichste Moment für das Verständnis der Erscheinungen, welche diese dissoziablen Gasverbindungen zeigen, völlig entstellt. Nach dem Gesetz der Massenwirkung muß in dem System



<sup>1)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., 1904, S. 389, vgl. 1894, S. 165; über die Ausrechnung von  $a$  und  $b$  vgl. Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXII, S. 362 (1880).

eine Erhöhung der NO-Konzentration in der Flüssigkeit, wie sie als Folge einer Druckerhöhung auftritt, eine Verschiebung des Gleichgewichts von links nach rechts herbeiführen, d. h. es muß die Menge des chemisch gebundenen NO zunehmen. Analoges gilt natürlich für die Blutfarbstoffe und andere Verbindungen dieses Typus.

Hüfner nimmt nun das voraus, was zu beweisen ist und was erst für völlig unterdrückte Dissoziation eintritt, d. h. wenn das Gleichgewicht ganz nach rechts geschoben ist, indem er «gemäß der Voraussetzung, daß je ein Atom Metall nur eine Molekel Stickoxyd verlangt»,<sup>1)</sup> dieses Molekül von der gefundenen Absorption abzieht und so verfolgt, was als im Wasser nur gelöster Anteil b übrig bleibt.

Hierbei kommt er dann allerdings mit seiner ganzen Vorstellung, wie er selbst offenbar bemerkt, vollständig ins Gedränge. «Hinsichtlich der Größen a und b ist zu bemerken, daß ihnen die Bedeutung, die sie nach der ursprünglichen Voraussetzung besitzen sollten, gar nicht zukommt». Warum sie trotzdem in der Arbeit zahlenmäßig genau berechnet und mitgeteilt sind, ist nicht recht ersichtlich.

So gelangt Hüfner, während in Wirklichkeit nach dem Gesetz der Massenwirkung die Fälle, um die es sich hier handelt, den allgemeinen Prinzipien eben dieses Gesetzes entsprechen, wie es scheint, zu dem Schluß, daß hier bei dem Ferrosulfat etwas ganz Besonderes vorliege: «Wie soll man sich aber den Zustand dieser so dissoziablen Verbindungen, wenn diese sich in wässriger Lösung befinden, überhaupt vorstellen?»

Hierbei muß jedoch um der Gerechtigkeit willen betont werden, daß Hüfner selbst bei seinen Versuchen mit Blutfarbstoffen bereits Zweifel über die Richtigkeit seiner Grundgleichung  $v = a + bp$  hegte. So sagt er schon 1894 ganz richtig:<sup>2)</sup> «Demnach kann von einem konstanten, vom Drucke unabhängigen a als dem Ausdruck für die an das Hämoglobin locker gebundene Gasmenge überhaupt niemals die Rede sein.» Einige Jahre vorher (1890) heißt es sogar: «Die Bedingungs-

<sup>1)</sup> Zeitschrift f. physik. Chem., Bd. LIX, 423 (1907).

<sup>2)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., 1894, S. 170.

gleichung selber ist unzulässig, nicht bloß  $b$  allein, auch  $a$  wird infolge der Dissoziation eine vom Druck abhängige Größe.<sup>1)</sup> Man möchte sich wundern, daß Hüfner nicht die einzig richtige Konsequenz aus den eben zitierten Sätzen zog, nämlich die, seine Gleichung  $v = a + bp$  definitiv und für immer zu verwerfen. Statt dessen ist im Gegenteil in späteren Arbeiten der Zweifel wieder verwischt; es tritt 1904 wieder das «vom Druck unabhängige  $a$ » auf<sup>2)</sup> und es findet sich sogar die sonderbare Bemerkung, daß «wenn man die Lösung des Farbstoffs konzentrierter nahm . . ., daß dann die Konstante  $b$  der Bedingungsgleichung, d. h. also der physikalisch absorbierte Gasanteil wegzufallen schien»,<sup>3)</sup> eine Bemerkung, deren Inhalt mit dem Gesetz der Massenwirkung ganz unvereinbar ist.

Die Schwierigkeit, mit welcher Hüfner hier kämpft, hat eine tiefere Ursache. Sie beruht darauf, daß er eine Frage von fundamentaler Bedeutung auf diesem Gebiet nicht klar stellte, nämlich die Frage, wie die Abhängigkeit des chemisch gebundenen Teils vom Druck, mit anderen Worten, wie die Abhängigkeit des Dissoziationsgrades vom Partialdruck hier zustandekommt. Die Antwort auf diese Frage muß nämlich lauten: Der Dissoziationsgrad hängt bei diesen Lösungen gasbindender Substanzen nur indirekt vom Drucke ab, insofern der chemisch gebundene Anteil des Gases (Hüfners  $a$ ) zufolge dem Gesetz der Massenwirkung bestimmt ist durch die Konzentration des nur gelösten Gases,<sup>4)</sup> welche ihrerseits dem Druck proportional ist. Experimentell bewiesen ist dies, wie es scheint, zum erstenmal 1906 in der Arbeit von Manchot und Zechentmayer, in der gezeigt wurde, daß Veränderungen der Konzentration des gelösten Gases (d. h. Veränderungen der Löslichkeit) auf den Dissoziationsgrad gerade so wirken wie Druckänderungen. Löst man z. B. Ferrosulfat statt in Wasser in Lösungen chemisch indifferenten Stoffe, so wird weniger NO chemisch gebunden, weil dann die Löslichkeit des Gases in

<sup>1)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., 1890, S. 16.

<sup>2)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., 1904, S. 388.

<sup>3)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., 1904, S. 393.

<sup>4)</sup> Wenn alle übrigen Einflüsse konstant gehalten werden (vgl. Kap. 3).

der Flüssigkeit, d. h. seine Konzentration geringer wird, welche letztere bei Gleichheit aller übrigen Bedingungen den Dissoziationsgrad bestimmt.

Hüfner hat nun 1890 (vgl. oben) die Sache so aufgefaßt, als ob a und b parallel nebeneinander vom Druck abhängig seien, aber auch in seinen späteren Arbeiten habe ich keine präzise Klarstellung dieses Punktes finden können. Andernfalls hätte Hüfner unbedingt dazu kommen müssen, seine Rechnung mit der Gleichung  $v = a + bp$  ganz aufzugeben: ja er hätte dann sogar selbst das Bedürfnis empfinden müssen, wenigstens nachträglich klarzustellen, wieweit die zahlenmäßigen Endresultate seiner Versuche von der irrthümlichen Grundlage seiner Rechnung beeinflußt werden, eine Nachprüfung, die in den Einzelheiten für einen anderen jetzt kaum noch möglich sein dürfte.

Bei alledem ist jedoch wohl zu bedenken, daß Anfang und Hauptentwicklung von Hüfners Arbeiten noch in eine Zeit fallen, wo die theoretischen Vorstellungen von Gleichgewicht und Massenwirkung noch nicht Gemeingut chemisch arbeitender Forscher geworden waren. So ist es auch erklärlich, daß Hüfner, als er noch 1907 seine schon vor längerer Zeit angestellten Versuche über die Stickoxydbindung des Ferrosulfats publizierte, die Unvereinbarkeit seiner Betrachtungen mit den Resultaten von Manchot und Zechentmayer nicht selbst bemerkte.

Im Gegensatz zu diesen Versuchen mit Ferrosulfat scheint aber bei Hüfners Untersuchungen mit Blutfarbstoffen die Wirkung der unrichtigen Rechnungsweise auf das Endresultat oft, aber keineswegs überall,<sup>1)</sup> relativ unerheblich zu sein (wegen der Ursache vgl. Schluß von Kap. 3). So kann man in der Arbeit von Hüfner und Küster<sup>2)</sup> über die Kohlenoxydverbindung des Hämochromogens ohne weiteres statt der dort errechneten Löslichkeit die Löslichkeit des Kohlenoxyds in Wasser einsetzen, weil es sich um eine Lösung von nur 0,5 g

<sup>1)</sup> Vgl. das in Kap. 4 über die Stickoxydbindung des Methämoglobins Gesagte.

<sup>2)</sup> Arch. f. Anat. u. Physiol., 1904 (Suppl.), S. 387.

fester Substanz in 206 ccm handelt, und erhält dann im Endrulat ungefähr dieselben Zahlen wie Hüfner und Küster. Gleiches gilt, so viel ich erkennen kann, von einer Anzahl seiner Versuche über die Sauerstoffkapazität des Blutfarbstoffes. Es scheint in allen denjenigen Fällen keine erhebliche Differenz gegenüber Hüfners Zahlen einzutreten, wo, wie in dem eben besprochenen Fall, das Flüssigkeitsvolumen klein und der Prozentgehalt der Lösung gering ist, während im entgegengesetzten Fall — viel Flüssigkeit und höherer Prozentgehalt — über den Zahlenwert des Schlußresultats eine ziemlich große Unsicherheit entsteht.

Aber auch wenn man von Fällen letzterer Art absieht und auch wenn man Bedenken in experimenteller Hinsicht — wegen der Benutzung von Hydrazin,<sup>1)</sup> wegen der photometrischen Eisenbestimmung,<sup>2)</sup> sowie wegen der Versuchsfehler bei der Gasmessung (vgl. Kap. 1) — für nicht gerechtfertigt hält, so bleiben doch gegen die Beweiskraft von Hüfners Methode noch prinzipielle Einwände bestehen, welche meines Erachtens ein allgemeineres Interesse verdienen und im folgenden auseinandergesetzt werden sollen.

### 3. Über die Bestimmung des Gasbindungsvermögens von Blutfarbstoffen und Metallsalzen.

Ausgehend von Versuchen über die Oxydationswirkung des molekularen Sauerstoffes<sup>3)</sup> habe ich das Verhalten ungesättigter Metallsalze gegen Sauerstoff mit dem gegen andere Gase wie Stickoxyd, Kohlenoxyd, Äthylen und Acetylen experimentell verglichen, wobei namentlich die dissoziablen Verbindungen der Ferro- und Cuprosalze studiert wurden.<sup>4)</sup> Hierbei

<sup>1)</sup> Vgl. Letsche, Diese Zeitschrift, Bd. LXVII, S. 177 (1910).

<sup>2)</sup> Vgl. z. B. Diese Zeitschrift, Bd. LXII, S. 204; Bd. LXIII, S. 313.

<sup>3)</sup> Zusammengefaßt in Verhandl. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg, Bd. XXXIX, S. 215 (1908).

<sup>4)</sup> Über die Cuproverbindungen des Kohlenoxyds, M. und Friend, Liebigs Ann., Bd. CCCLIX, S. 100 (1908). — Über die Cuproverbindungen des Äthylens, M. und Brandt, Liebigs Ann., Bd. CCCLXX, S. 268 (1909). — Über die Cuproverbindungen des Acetylens, M. und Withers (vgl. Withers, Dissertation Würzburg 1910). — Über die Ferroverbindungen des Stick-



ergab sich, daß der Gleichgewichtszustand von einer Reihe von Umständen abhängt, als welche zu nennen sind: Druck, Temperatur, Konzentration der gasbindenden Substanz, spezielle Reaktionen der letzteren (z. B. Hydrolyse, Komplexbildung) und endlich die Natur des Lösungsmittels.

Eine eingehende Durchsicht der Literatur zeigte mir, daß der Einfluß der genannten Faktoren bei den bisherigen Untersuchungen über den Blutfarbstoff keineswegs in vollem Umfange systematisch berücksichtigt worden ist. Meine Versuche ergaben dann, daß ein Studium des Einflusses der Konzentration<sup>1)</sup> neue Aufschlüsse über den Vorgang der Sauerstoffbindung im Blute liefert.

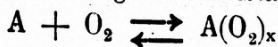
Man muß unterscheiden zwischen der Frage nach dem chemischen Bindungsvermögen des Blutfarbstoffs und den Fragen: Wieviel Sauerstoff enthält das gesättigte natürliche Blut? Wie-

oxyds, M. und Zechentmayer, Liebigs Ann., Bd. CCCL, S. 368 (1906); M. und Huttner, Liebigs Ann., Bd. CCCLXXII, S. 153 (1910). — Über die Sauerstoffbindung im Blute, Manchot, Liebigs Ann., Bd. CCCLXX, S. 241 (1909); Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg (27. V. 1909). — Über die Verbindungen des Stickoxydes mit dem Eisen und dem Blutfarbstoff, Manchot, Liebigs Ann., Bd. CCCLXXII, S. 179 (1910). — Über die Verbindungen des Stickoxydes mit Kupferoxydsalzen, Manchot, Liebigs Ann., Bd. CCCLXXV, S. 308 (1910).

<sup>1)</sup> Eine mir zugegangene briefliche Äußerung gibt mir zu folgender Bemerkung Anlaß: Es möchte scheinen, als ob bei dem Blut insofern etwas Besonderes vorliege, als die gasbindende Substanz nicht in der Flüssigkeit homogen gelöst, sondern in den roten Blutkörperchen angehäuft ist. Nun zeigt aber schon das Funktionieren des Blutfarbstoffes an sich, daß der Gasaustausch auch durch die Begrenzungssphäre der roten Blutkörperchen hindurch ungehindert stattfindet, daß also — soweit es sich um die Gasbindung handelt — ein prinzipieller Unterschied im Verhalten der gasbindenden Substanz in den Blutkörperchen gegenüber homogenen Lösungen gasbindender Stoffe nicht vorhanden ist. Andererseits wird letzteres dadurch bewiesen, daß Wasserzusatz dieselbe Wirkung auf das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes ausübt wie isotonische und hypertönische Verdünnungsmittel. Natürlich kann wohl ein gradueller Unterschied zwischen Wasser und solchen Verdünnungsmitteln vorhanden sein, insofern einerseits die hydrolysierende Wirkung des Wassers wohl größer ist, andererseits, wenn die Blutkörperchen nicht gelöst werden, die verteilende Wirkung des Verdünnungsmittels weniger wirksam ist als bei einer homogenen Flüssigkeit.

viel Sauerstoff enthält eine gesättigte Hämoglobinlösung von bekanntem Gehalt?

Diese Fragen sind bisher nicht genügend getrennt worden, vielmehr sind die Arbeiten über die Sauerstoffkapazität des Blutfarbstoffes wohl durchweg so ausgeführt worden, daß man Blut bei einer bestimmten Vergleichstemperatur und unter einem bestimmten Druck mit Sauerstoff sättigte und dann die Menge des absorbierten Gases ermittelte, eventuell auch die Sättigung bei verschiedenen, über ein nicht sehr großes Intervall sich erstreckenden Drucken ausführte. Oder man hat dieselbe Operation mit einer Hämoglobinlösung ausgeführt. Wenn man aber dies tut, so ist das, was man ermittelt, nicht das chemische Bindungsvermögen des Blutfarbstoffs, nicht das Verhältnis von Eisen zu Sauerstoff in der chemischen Verbindung des Hämoglobins mit dem Sauerstoff, sondern man führt nur eine Bestimmung des Gleichgewichtszustandes



aus, welcher den gerade gewählten willkürlichen Versuchsbedingungen entspricht.

Diese Bedingungen sind im chemischen Sinne auch dann ganz willkürliche, wenn sie wirklich den im Organismus obwaltenden Verhältnissen genau entsprechen sollten (bei «physiologischer Sättigung»). Man hat dann z. B. etwas Ähnliches, wie wenn man eine Ferrosulfatlösung unter willkürlichen Bedingungen mit Stickoxyd sättigt und die Menge des aufgenommenen Stickoxydes mißt, d. h. man hat einen ganz analogen Fall, wie er in den oben erwähnten Versuchen Hüfners mit Ferrosulfat und Stickoxyd vorliegt. Man findet also z. B. (vgl. oben), daß eine 0,009 normale Ferrosulfatlösung 10 l NO auf ein Grammatom Eisen gebunden enthält, wenn die Versuchstemperatur 19,6° ist und der Partialdruck eine Atmosphäre beträgt. Wieviel Stickoxyd aber in der durch die Reaktion entstehenden Verbindung auf ein Atom Eisen kommt, mit anderen Worten, welches die Zusammensetzung der entstehenden NO-Verbindung ist, läßt sich daraus in keiner Weise erkennen. Hierfür ist es vielmehr nötig, alle die Umstände, welche Einfluß auf den Dissoziationsgrad der Verbindung haben,

genau zu studieren, wie dies von mir a. a. O. ausführlich auseinandergesetzt ist. Man muß also zwischen physiologischer und chemischer Sättigung unterscheiden.

Führt man nun eine physiologische Sättigung verschiedener Blutproben aus, so muß, auch wenn die äußeren Bedingungen der Sättigung (Partialdruck und Temperatur) gleich gemacht werden, der Gleichgewichtszustand in Wirklichkeit doch gewisse Schwankungen zeigen, da ja die Bedingungen der Sättigung unmöglich ganz genau gleiche sein können: es könnte z. B. die Dichte des Serums etwas variieren, was durch den Einfluß, den es auf die Löslichkeit des Gases hätte, wie eine Verschiedenheit im Partialdruck wirken würde; es variieren ferner die in der Volumeinheit vorhandene Menge des Blutfarbstoffs und der Kohlensäuregehalt, beides Faktoren, welche den Gleichgewichtszustand beeinflussen.<sup>1)</sup>

Mit der Größe dieser Schwankungen des Sättigungszustandes des natürlichen Blutes habe ich mich nicht beschäftigt. Nach Bohrs<sup>2)</sup> Angaben aber können sie über  $\pm 15\%$  der Sättigung betragen. Wo nun einmal keine Schwankungen gefunden werden, wie in der Arbeit von Butterfield,<sup>3)</sup> sowie von Masing und Siebeck,<sup>4)</sup> könnte dies meines Erachtens daran liegen, daß die Schwankungen durch die Versuchsfehler überdeckt werden, wenn an relativ kleinen Blutvolumina gemessen wird (10—20 ccm), mag dies auch bei Benutzung von Menschenblut unvermeidlich sein. Nun ist es aber doch wohl sehr möglich, bei einer solchen Messung einen Fehler von 0,4 oder 0,2 ccm zu machen, nicht sowohl beim Ablesen, als bei der Gesamtheit der Operationen, z. B. durch Eindringen von Luft, Entstehung von Kohlenoxyd, welches bei Benutzung von Pyrrogallol auftritt, kleine Verluste bei der Gasanalyse usw. Ein derartiger Fehler, mit dem wohl alle Chemiker bei Gasanalysen rechnen, müßte aber bei Arbeiten mit so kleinen

<sup>1)</sup> Vgl. Manchot, Liebigs Ann., Bd. CCCLXX, S. 281.

<sup>2)</sup> Vgl. Bohr in Nagels Handbuch, Bd. I, S. 102 (1905).

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXII, S. 173 (1909).

<sup>4)</sup> Arch. f. klin. Medizin, Bd. XCIX, S. 130 (1910).

Mengen einen ganz erheblichen Bruchteil des gemessenen Gasvolumens ausmachen.

Man erkennt nun aus den vorhandenen Arbeiten, daß der Gleichgewichtszustand des im physiologischen Sinne gesättigten Blutes annähernd durch den Wert von 1 Molekül  $O_2$  auf 1 Fe definiert ist, aber mit nicht unerheblichen Schwankungen, indem bald weniger Sauerstoff vorhanden ist, als diesem Betrag entspricht, so daß auch sauerstofffreies Hämoglobin neben der Verbindung auftritt, die auf ein Fe ein  $O_2$  enthält, bald aber auch mehr Sauerstoff, so daß sich auch etwas von der Verbindung des Hämoglobins mit zwei Molekülen  $O_2$  bilden kann.

Letzterer Wert (2 Mol. Gas) erscheint in meinen Versuchen als Grenzwert des chemischen Gasbindungsvermögens des Blutfarbstoffs.

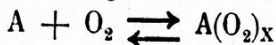
Aus meinen Versuchen geht weiter hervor, daß es nicht zweckmäßig ist, Versuche, die mit dem natürlichen Blutfarbstoff angestellt worden sind, zu vermengen mit solchen, bei welchen Hämoglobinlösungen benutzt wurden. Denn nach meinen Beobachtungen nimmt das Gasbindungsvermögen des natürlichen Blutfarbstoffs beim Verdünnen mit Wasser und isotonischen Lösungen zunächst zu, dann aber wieder ab (vgl. die Verdünnungskurven). Je nach der Darstellung (Art des Auswaschens) und der Konzentration der Hämoglobinlösung wird somit der Gleichgewichtszustand, den man dann beim Sättigen der Hämoglobinlösung erhält, vor oder — wohl meistens — hinter dem Maximum der Gasabsorption liegen.

Es ist nun möglich oder sogar wahrscheinlich — bisher konnten diese ziemlich schwierigen Versuche noch nicht ausgeführt werden —, daß man bei weiterer Fortsetzung solcher Verdünnungsversuche mit Blut in ein Gebiet gelangt, bei welchem weitere Verdünnung keine Wirkung mehr hat, und daß dies dann der Fall ist, wenn das Gasbindungsvermögen auf ein Molekül heruntergegangen ist. Da nun bei sehr großer Verdünnung die durch Hydrolyse aus dem natürlichen Blutfarbstoff abgespaltenen Stoffe schließlich nur noch denselben Effekt ausüben können, wie wenn sie gar nicht mehr vorhanden

wären, so würde man am Ende das gleiche System erhalten, wie wenn man von sehr gut ausgewaschenem Hämoglobin ausgeht.

Es kann hiernach nicht weiter auffallen und nicht als im Widerspruch mit meinen Beobachtungen stehend betrachtet werden, wenn bei Versuchen mit «Hämoglobinlösungen» Werte gefunden werden, welche dem Betrag von einem Molekül Gas auf ein Atom Eisen gleich kommen, ihn übersteigen oder hinter ihm zurückbleiben, wobei bezüglich des Auftretens solcher Schwankungen übrigens wieder das oben über die Versuchsfehler bei Anwendung sehr kleiner Mengen Gesagte gilt.

Natürlich ist die Möglichkeit zuzugeben, daß man bei manchen älteren Bestimmungen an Hämoglobinlösungen mit den angewandten willkürlichen Bedingungen zufälligerweise in das Gebiet hineingeraten ist, wo keine Dissoziation mehr vorhanden ist, wo also das Gleichgewicht



fast ganz nach rechts geschoben ist. Man hätte dann eben richtige Verbindungsformeln für das Bindungsvermögen, aber auf unzureichender Grundlage erhalten.<sup>1)</sup> An sich würde es aber ebensowenig gerechtfertigt sein, aus solchen Werten eine Formel herzuleiten, weil das Resultat zufälligerweise einem ganzen Molekül pro Atom Eisen nahe kommt, als es gerechtfertigt wäre, für die Verbindung von Ferrosulfat und Stickoxyd eine Formel allein aus dem Bindungsverhältnis zu berechnen, welches sich für beliebig gewählte Versuchsbedingungen (vgl. oben) ergibt. Derartiges gilt wahrscheinlich von der Bestimmung der Stickoxydkapazität von Methämoglobin, der Kohlenoxydkapazität von Hämochromogen und vielleicht sogar auch für die Lösungen von Hämoglobin im Gegensatz zum natürlichen Blutfarbstoff. Um mich hinsichtlich der letzteren deut-

<sup>1)</sup> Die wichtigste Aufgabe ist also jetzt nicht, wie Letsche (Diese Zeitschrift, Bd. LXVII, S. 191) meint, die Löslichkeit des Sauerstoffes in Hämoglobinlösungen genau festzulegen, zumal bei dieser Bestimmung Analogieschlüsse und Schätzungen kaum zu vermeiden sein dürften. Von ganz erheblich größerer Wichtigkeit ist es vielmehr, in Zukunft bei der Ermittlung des Gasbindungsvermögens von Hämoglobinlösungen allen den Faktoren Rechnung zu tragen, welche das Gleichgewicht beeinflussen.

lich auszudrücken: Es ist möglich, daß vom Blut getrennte «Hämoglobin»-Präparate ein anderes und zwar geringeres Gasbindungsvermögen besitzen wie der natürliche Blutfarbstoff.

Es ergibt sich also folgendes Verhältnis: Der Gleichgewichtszustand des gesättigten Blutes (für Luft und gewöhnliche Temperatur) sowohl wie der von verdünnten Lösungen denaturierten Blutfarbstoffs («Hämoglobin») kommen infolge eines rein zufälligen Zusammentreffens beide — aber nur ganz ungefähr (vgl. Bohr) — dem Wert von 1 Molekül  $O_2$  auf 1 Fe nahe, während das chemische Gasbindungsvermögen des natürlichen Blutfarbstoffs nach meinen Versuchen viel größer ist.

Ich fasse schließlich die verwickelte Sachlage bezüglich der Hufnerschen Versuche kurz so zusammen: Hufner benutzt eine unrichtige Rechnungsmethode und er ermittelt genau genommen nur einen willkürlich hergestellten Gleichgewichtszustand. Beides hat aber auf das zahlenmäßige Endresultat seiner Hämoglobinversuche scheinbar nur geringen Einfluß, weil zufällig unter den von ihm gewählten Bedingungen dieser Gleichgewichtszustand einem Molekül Gas pro Atom Eisen nahekommt und dieser Wert für «Hämoglobin», nicht aber für den natürlichen Blutfarbstoff möglicherweise, ohne daß es bis jetzt bewiesen wäre, auch das wirkliche Bindungsvermögen darstellt, d. h. weil diese willkürlichen Versuchsbedingungen vielleicht zufälligerweise dem Gebiet völlig unterdrückter Dissoziation für «Hämoglobin» angehören. Dagegen tritt die Unzulänglichkeit und mangelnde Beweiskraft der Hufnerschen Methodik, welche hier durch zufällige Umstände verdeckt wird, dadurch zutage, daß diese Methodik in unveränderter Gestalt auf den Fall Ferrosulfat-Stickoxyd angewandt ad absurdum führt.

#### 4. Über die Wertigkeit des Eisens im natürlichen Blutfarbstoff.

Wie aus dem Vorstehenden ersichtlich ist, wird das Gasbindungsvermögen des natürlichen Blutes durch chemische Einflüsse sehr leicht verändert. Wenn somit Küster<sup>1)</sup> das «Hä-

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. LXVI, S. 249 (1910).



mochromogen», welches aus dem Hämoglobin erst über das Hämatin durch Reduktion des letzteren entsteht, als Bestandteil des Hämoglobins ansieht und weiter schließt, daß, weil das Hämochromogen eine Ferroverbindung sei, auch im Hämoglobin das Eisen in der Oxydulform vorliege, so dürfte dieser Schluß nicht begründet sein.

Unter Benutzung der im vorstehenden entwickelten Gesichtspunkte habe ich gezeigt, daß das chemische Bedingungsvermögen des Blutfarbstoffes für Gase dem Grenzwert von 2 Molekülen zustrebt, also für Sauerstoff, Kohlenoxyd und Stickoxyd durch den gleichen Grenzwert ( $2 O_2$ ,  $2 CO$ ,  $2 NO$ ) definiert ist, und unter gleichen Bedingungen nur der Abstand von dieser Grenze bei den einzelnen Hämoglobingasverbindungen, d. h. der Dissoziationsgrad verschieden ist. Mit Stickoxyd kommt man diesem Grenzwert am nächsten.<sup>1)</sup> Die Stickoxydbindung ist stets noch größer wie die Bindung von Kohlenoxyd. Die Stickoxydverbindung des Hämoglobins enthält somit viel mehr Stickoxyd, als Eisenoxydulsalze zu binden vermögen, denn es gelang mir in der mit F. Huttner ausgeführten Arbeit bei ausdrücklich darauf gerichteten Versuchen auf keine Weise, mit Hilfe von Ferrosalzen ein System zu konstruieren, in welchem das Eisen mehr wie ein Molekül  $NO$  gebunden hätte. Umgekehrt gelang mir dies sehr leicht mit Hilfe des Ferrisulfats, dessen Stickoxydverbindung  $Fe_2(SO_4)_3$  4  $NO$  zwei Moleküle Stickoxyd pro Atom Eisen enthält und rote Farbe besitzt.<sup>2)</sup>

Hieraus folgt, daß der natürliche Blutfarbstoff das Eisen in der Ferriform enthält.

<sup>1)</sup> Dieses Ergebnis findet eine Bestätigung in der Untersuchung von Hüfner und Reinhold (Arch. f. Anat. u. Physiol., Supplem. 1904. S. 391), nach welcher vom Methämoglobin 2  $NO$  auf 1  $Fe$  gebunden werden. Abgesehen von den willkürlichen Bedingungen dieser Versuche (vgl. Kap. 3) sind indessen leider gerade hier so große Flüssigkeitsvolumina benutzt (400 ccm), daß es bei der ziemlich großen Löslichkeit des Stickoxyds einen ziemlichen Unterschied macht, wenn man statt der in jener Arbeit irrtümlich errechneten Löslichkeit die Wasserlöslichkeit des Stickoxydes oder diese willkürlich verkleinert einsetzt. Jedoch ergibt sich auch dann die gebundene  $NO$ -Menge als deutlich größer wie ein Molekül.

<sup>2)</sup> Liebigs Ann., Bd. CCCLXXII, S. 153, 179 (1910).

Es ließe sich ja auch schwer verstehen, wie der Mechanismus der Atmung, d. h. Anlagerung, Transport und Abspaltung des Sauerstoffes mit einer Ferroverbindung so glatt funktionieren sollte, ohne durch Umwandlung des Eisens in die Ferristufe häufig gestört zu werden.

Auf den ersten Blick möchte allerdings die Vermutung näher liegen, daß der Organismus sich der Oxydulstufe des Metalles für die Sauerstoffbindung bediene, da ja gerade letztere durch ihr Reaktionsvermögen gegenüber dem Sauerstoff charakterisiert ist, und auch ich habe eine Zeitlang den Gedanken verfolgt, daß das Hämoglobin vielleicht — etwa durch Komplexbildung — eine Vorrichtung besitze, welche den Übergang des Eisenatoms aus der Oxydul- in die Oxydstufe verhindere. Eine derartige Vermutung schien namentlich gestützt durch die Tatsache, daß beim Kupfer, welches ja in gewissen Blutarten die Stelle des Eisens vertritt, gerade die Oxydulstufe (bei  $\text{CuCl}$ ) ein auffallendes Additionsvermögen gegenüber einigen Gasen (Kohlenoxyd, Äthylen, Acetylen und Sauerstoff) besitzt, welche auch vom Blutfarbstoff gebunden werden. Das Experiment hat jedoch, wie man sieht, zugunsten der Schlußfolgerung entschieden, daß der Organismus mit der Oxydstufe des Eisens arbeitet.

Tatsächlich lassen sich denn auch für den kupferhaltigen Blutfarbstoff (Hämocyanin) eine Reihe von Gesichtspunkten aufstellen, denen zufolge wenigstens die größere Wahrscheinlichkeit dafür spricht, daß auch hier das Metall in der Oxydform (Cupriform) vorliegt.

##### 5. Über die Wertigkeit des Kupfers im Hämocyanin.

Bekanntlich zeigt dieser Blutfarbstoff, z. B. bei Octopus unter der Wirkung des Sauerstoffes einen Farbenschlag von farblos in blau. Man möchte daher zunächst zu der Vermutung neigen, daß dieser Farbenschlag dem Übergang eines Oxydulsalzes des Kupfers in die Cupriform entspreche. Stellt man indessen eine Kupferoxydsalzlösung (Chlorid oder Sulfat in Wasser oder Alkohol) von der Konzentration her, welche dem Kupfergehalt des Blutes von Octopus entspricht,<sup>1)</sup> so zeigt

<sup>1)</sup> Vgl. Henze, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 371 (1901).

sich, daß diese nur ganz schwach gefärbt, nahezu farblos, bei Anwendung von konzentrierter Schwefelsäure als Lösungsmittel überhaupt farblos ist. Cuprisalzlösungen von dieser Verdünnung werden aber, wenn konzentrierte Schwefelsäure oder Alkohol als Lösungsmittel gewählt wurde, durch Stickoxyd ganz intensiv blauschwarz gefärbt. Hierbei wird nach meinen Versuchen<sup>1)</sup> 1 Mol. NO pro Atom Cu aufgenommen.

Nun sind aber die Anlagerungen von Stickoxyd und Sauerstoff an ungesättigte Metallsalze zweifellos analoge Vorgänge, und wenn auch Verbindungen der Cuprisalze mit dem Sauerstoff noch nicht bekannt sind, so gibt es doch Reaktionen, bei denen Cuprisalze gegenüber dem gasförmigen Sauerstoff als Überträger wirken. Diese lassen sich im Hinblick auf das Verhalten der Cuprisalze gegen Stickoxyd jetzt kaum noch anders deuten als so, daß sie durch intermediäre Anlagerung des Sauerstoffmoleküls an das Cuprisalz zustande kommen. Hierher gehört die Wirkung von Kupfersulfat bei der Oxydation von Salzsäure nach dem Deakon-Verfahren, sowie die auffallende Beschleunigung, welche Cuprisalze auf die oxydierende Wirkung des Sauerstoffgases gegenüber manchen Substanzen z. B. schweflige Säure ausüben.

Da ferner blaue Verbindungen des Kupferoxyduls überhaupt nicht bekannt sind, so muß der mit leicht abspaltbarem Sauerstoff beladene blaue Blutfarbstoff das Metall jedenfalls in der Oxydform enthalten. Wenn aber an der Sauerstoffbindung und Weitergabe im Blute dieser Tiere auch noch ein Hin und Her zwischen Oxydul- und Oxydform einen Anteil hätte, so würde dies, ebenso wie beim eisenhaltigen Hämoglobin wohl einen für glattes Funktionieren der Atmung wenig geeigneten Mechanismus vorstellen.

Aus den Versuchen von Henze (a. a. O.) läßt sich berechnen, daß das Blut des Octopus im Zustand der «physiologischen Sättigung» pro Grammatom Kupfer ca. 6,4 l Sauerstoff enthält (einschließlich des nur gelösten Sauerstoffs). Chemisch gebunden wäre unter diesen Bedingungen also nur ca.  $\frac{1}{4}$  Mol. O<sub>2</sub> auf 1 Cu.

<sup>1)</sup> Liebigs. Ann., Bd. CCCLXXV, S. 308 (1910).

Über die Größe des chemischen Gasbindungsvermögens geben aber diese Versuche zufolge dem in Kapitel 3 Gesagten noch keinen Aufschluß. Wegen des großen Materialverbrauchs dürfte die Bestimmung des letzteren auch ziemlich schwer durchzuführen sein, wenn sie den Anforderungen entsprechen soll, die nach dem Obigen gegenwärtig an diese Bestimmung gestellt werden müssen. Es dürften ferner Versuche mit Stickoxyd, um die Parallele mit den Cuprisalzen zu erkennen, vielleicht deshalb auf Schwierigkeiten stoßen, weil das Stickoxyd sich empfindlichen organischen Substanzen gegenüber als ein noch kräftigeres Oxydationsmittel erweist wie der freie Sauerstoff und die beim Stehen solchen Blutes von selbst ziemlich rasch erfolgende Entfärbung darauf hinweist, daß die Blutflüssigkeit hier empfindlichere Substanzen enthält wie bei den Warmblütern.<sup>1)</sup> Da indessen das Hämocyanin schon bei der Behandlung mit kalter verdünnter Salzsäure nach vorhandenen Angaben Kupfer als Cuprisalz abspaltet, so dürfte es nicht allzu schwierig sein, in einem Laboratorium, wo solches Blut in frischem Zustande zur Verfügung steht, diese Abspaltung des Kupfers aus dem reduzierten Blut in einer sauerstofffreien Atmosphäre vorzunehmen und auf diese Weise die Wertigkeit des Metalles hier direkt zu erkennen. Sollte sich dies bestätigen, so würde damit indirekt eine neue Stütze für die oben vertretene Auffassung vom Funktionieren des Eisenhämoglobins gegeben sein. Ich erlaube mir hierauf aufmerksam zu machen, weil ich wegen der Schwierigkeit der Materialbeschaffung auf absehbare Zeit selbst nicht in der Lage bin, mich mit den kupferhaltigen Blutarten experimentell zu beschäftigen.<sup>2)</sup> Dagegen beabsichtige ich, meine Versuche mit Hämoglobin selbst weiter fortzusetzen.

<sup>1)</sup> Vgl. Verhandl. d. phys.-med. Ges. zu Würzburg, Bd. XXXIX, S. 229 (1908).

<sup>2)</sup> Herrn Prof. Cori, Direktor der K. K. Zoologischen Station in Triest, welcher mir auf meine Bitte solches Blut übersandte, möchte ich für seine Freundlichkeit auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen.