

# Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Oxyhämoglobins im Gitterspektrum.

Von

O. Schumm.

Mit zwei Tafeln in Lichtdruck.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.)  
(Der Redaktion zugegangen am 13. September 1912.)

## Einleitung.

Genauere Ortsbestimmungen der Absorptionsstreifen in absoluten Werten bilden das Gerüst für den Bau der qualitativen Absorptionsspektralanalyse von Farbstoffen. Die Bezeichnung des Orts eines Absorptionsstreifens erfolgt vor allem durch Angabe der Wellenlänge derjenigen Lichtart, die mit seiner dunkelsten Stelle oder, falls eine solche nicht deutlich hervortritt, mit seiner Mitte zusammenfällt.

Die Ausführung solcher Bestimmungen geschah bis vor kurzem fast ausschließlich im prismatischen Spektrum. Das absorptive Verhalten des Oxyhämoglobins gegenüber dem Gitterspektrum, dem «normalen» Spektrum, ist zwar auf photographischem Wege untersucht worden; dagegen sind genaue Ortsbestimmungen der Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins durch okulare Messungen mit Hilfe des Gitterspektrometers noch nicht ausgeführt bzw. veröffentlicht worden.

Da die Absorptionserscheinungen einen abweichenden Charakter haben, je nachdem sie im Prismenspektrum oder im Gitterspektrum erzeugt werden, ist es fraglich, ob die für das prismatische Spektrum geltenden Angaben über den Ort der Absorptionsstreifen ohne weiteres auf das Gitterspektrum übertragen werden können.

Ein zweckmäßig konstruiertes Prismenspektroskop eignet sich für die Wahrnehmung schwacher Absorptionserscheinungen im Rot und Orange in manchen Fällen besser als ein Gitterapparat gleicher Gesamtdispersion, sodaß für solche Zwecke auch in Zukunft in erster Linie das Prismenspektroskop herangezogen werden dürfte. Andererseits ist nicht zu

bezweifeln, daß die Gitterapparate, namentlich die genau arbeitenden Gitterspektrometer, da sie ein «normales» Spektrum liefern, zunehmende Verbreitung finden werden, um so mehr, als sie zur Untersuchung der im Blau und Violett auftretenden Absorptionserscheinungen im allgemeinen besser geeignet sind als die Prismenapparate. Der den Gittern anhaftende Mangel einer geringeren Lichtstärke tritt bei den neuerdings erhältlichen Gittern von geringer Furchenzahl nicht mehr so stark hervor, sodaß bei Benutzung einer geeigneten Beleuchtungsvorrichtung, namentlich der Nernst-Lampe oder einer Metallfadenlampe nebst Kondensator, eine ausreichende Helligkeit erzielt wird.

Aus dieser Sachlage ergab sich die Notwendigkeit, das absorptive Verhalten des Oxyhämoglobins gegenüber dem Gitterspektrum durch möglichst genaue Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen in einem geeigneten Gitterspektrometer zu prüfen.

Für den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Streifen des Oxyhämoglobins sind durch okulare Ortsbestimmung im Prismenspektrum in neuerer Zeit folgende Werte gefunden worden:

Von Formánek:  $\alpha$ -Streifen  $\mu\mu$  578,1.  $\beta$ -Streifen 541,7.<sup>1)</sup>

Vom Verfasser: » » » 578. » » » 542.<sup>2)</sup>

Lewin, Miethe und Stenger haben durch Ausmessung von Gitterspektrogrammen für den  $\alpha$ - und  $\beta$  Streifen Werte gefunden, die von den obigen nicht unerheblich abweichen:

für frisches Herzblut von Kaninchen  $\mu\mu$  577 und 537,  
für Oxyhämoglobin<sup>3)</sup> aus Pferdeblut » 579 » 542.

<sup>1)</sup> J. Formánek, Die qualitative Spektralanalyse anorganischer und organischer Körper. II. Aufl. Berlin, Verlag von R. Mückenberger, 1905.

<sup>2)</sup> O. Schumm, Klinische Spektroskopie, Jena, Verlag von G. Fischer, 1909.

<sup>3)</sup> L. Lewin, A. Miethe und E. Stenger, Über die durch Photographie nachweisbaren spektralen Eigenschaften der Blutfarbstoffe und anderer Farbstoffe des tierischen Körpers. Pflügers Archiv für Physiologie, Bd. 118, 1907, S. 88. «Reines, aus Pferdeblut hergestelltes Oxyhämoglobin wurde bis zum konstanten Gewicht getrocknet und in 0,18 %iger Lösung photographiert.» Über die Beschaffenheit des «reinen» Oxyhämoglobins machen Lewin, Miethe und Stenger keine näheren Angaben, namentlich fehlt die Angabe über die Temperatur, bei der das Oxyhämoglobin getrocknet wurde. —

Das Kaninchenblut war in einer Verdünnung von 1:40 bis 1:100 bei einer Schichtdicke von 1,5 cm und einer Spaltweite des Apparates von 0,2 mm (!) spektrographiert worden, das Oxyhämoglobin aus Pferdeblut in 0,18%iger Lösung wie auch in stärker verdünnten Lösungen; dabei betrug die Spaltweite des Spektrographen 0,2 mm (!) und die Schichtdicke der Lösungen 1 cm.

Ortsbestimmungen des von Soret<sup>1)</sup> entdeckten  $\gamma$ -Streifens im Violett hat zuerst Gamgee<sup>2)</sup> ausgeführt. Als Material für die Messungen dienten ihm Spektrogramme, die er offenbar mit großer Sorgfalt, unter Benutzung eines Quarz-Prismenspektrographen hergestellt hatte. Gamgee gibt für den  $\gamma$ -Streifen den Wert  $\mu\mu$  414 an.

Weitere Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Oxyhämoglobins im Violett und Ultraviolett des Quarzprismenspektrums hat Charles Dhéré ausgeführt.<sup>3)</sup> Er bestimmte die Lage des Violettstreifens durch Feststellung seiner Mitte und seiner Breite bei verschiedener Schichtdicke einer Lösung des krystallisierten Oxyhämoglobins vom Pferde. Bei den von ihm angewandten Schichtdicken wechselte die Mitte des Violettstreifens von  $\mu\mu$  415,3 bis  $\mu\mu$  391,7. Dhéré gibt ferner an, daß Oxyhämoglobinlösungen geeigneter Konzentration einen Absorptionsstreifen im Ultraviolett auf  $\mu\mu$  274,9 zeigen.

Lewin, Miethé und Stenger<sup>4)</sup> haben den Ort des  $\gamma$ -Streifens durch Ausmessen von Gitterspektrogrammen bestimmt und machen darüber unter anderem folgende Angaben:<sup>5)</sup> «So ergab z. B. Kaninchenblut unter folgenden Bedingungen:

<sup>1)</sup> J. L. Soret, Recherches sur l'absorption des rayons ultra-violets par diverses substances. Archives des sciences physiques et naturelles (Genève) t. 61 (1878), S. 322—359 und t. 66 (November 1883), S. 429—494, zitiert nach A. Gamgee.

<sup>2)</sup> Arthur Gamgee, Of the Absorption the Extreme Violet and Ultra-Violet Rays of the Spektrum by Hämoglobin, its Compounds and Certain of its Derivatives. Zeitschr. f. Biologie, Bd. 34, 1896, S. 505.

<sup>3)</sup> Charles Dhéré, Recherches spectrographiques sur l'absorption des rayons ultra-violets par les albuminoïdes, les protéïdes et leurs dérivés. Fribourg, 1909, Fragnière Frères. —

<sup>4)</sup> l. c.

<sup>5)</sup> l. c., S. 89 und 90.

	Schichtdicke 1,5 cm		Spalt 0,2 mm	
Verdünnung . . . . .	1:400	1:600	1:800	1:1000
Expositionszeit in Sekunden .	80	60	40	20

die Lage des Streifens aus 50 Messungen auf:

$$\lambda = 415.$$

Die gleiche Lage hat er im Menschenblut, im Schweineblut und im Regenwurmblut. Aus 42 Messungen von Pferdeblutspektrogrammen ergab sich die Lage von  $\lambda = 413$ . Das Mittel aus insgesamt 142 Messungen von Blutspektrogrammen läßt den abgerundeten Wert  $\lambda = 415$  als richtig erscheinen.

Die Spektrogramme des reinen Oxyhämoglobins ergaben nach 134 Messungen die Lage des Violetstreifens ebenfalls auf

$$\lambda = 415.$$

Wodurch die zwischen den angeführten Werten für den Ort des Violetstreifens<sup>1)</sup> bestehenden Unterschiede bedingt sind, ist bislang nicht aufgeklärt. Die erheblichen Abweichungen, die zwischen einzelnen der von Lewin, Miethe und Stenger gefundenen Werte bestehen, könnten, sofern man sie nicht auf Versuchsfehler beziehen will, zu der Annahme führen, daß z. B. der im Herzblut von Kaninchen enthaltene Farbstoff ein etwas anderes absorptives Verhalten besitze als das Oxyhämoglobin aus Pferdeblut, besonders wenn man berücksichtigt, daß nach den Angaben dieser Autoren die «spektrographische» Methode genauer sein soll als die «spektroskopische.» Die von Lewin, Miethe und Stenger bei Kaninchenblut und Pferdeblut gefundenen Werte für die Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  liegen ebenfalls ziemlich weit auseinander.

Es erschien daher notwendig, auch mittels der (neuerdings ja vervollkommenen) spektrogrammetrischen Methode genaue Ortsbestimmungen der drei Absorptionsstreifen ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) des Oxyhämoglobins im Gitterspektrum auszuführen und zu prüfen, ob in der Tat erhebliche Unterschiede

<sup>1)</sup> Ort des Violetstreifens = dunkelste Stelle (bei okularen Beobachtungen) bezw. = Stelle der geringsten photochemischen Einwirkung (auf der photographischen Platte).

im absorptiven Verhalten des Oxyhämoglobins verschiedener Herkunft nachweisbar seien.

Den von Dhéré besprochenen vierten Absorptionsstreifen im Ultraviolett, auf  $\mu\mu$  274,9, habe ich in der vorliegenden Abhandlung nicht berücksichtigt. Entscheidende Feststellungen über die Lage dieses Streifens im normalen (Gitter-)Spektrum würden die Benutzung einer besonderen Art Gitter erfordern, deren Beschaffung mir bislang nicht möglich gewesen ist.

Als die vorliegende Untersuchung bereits abgeschlossen war, kam mir die im Februar 1912 erschienene Arbeit von Heubner und Rosenberg<sup>1)</sup> zu Gesicht, in der ein spektrographisches Verfahren zur Bestimmung der Intensitätsverteilung in Blutspektren beschrieben und über Ergebnisse berichtet wird, die bei der Untersuchung von Kaninchen-, Hammel- und Schweineblut erhalten wurden. Das untersuchte Material bestand aus Blut dreier Kaninchen, eines Hammels und eines Schweines. Die spektrographischen Aufnahmen erfolgten in einem von Spindler und Hoyer in Göttingen bezogenen Gitterspektrographen. Angaben über die optischen Verhältnisse der Objektivs und des Gitters fehlen; es wird nur erwähnt, daß der Apparat eine Thorpsche Gitterkopie enthielt. Heubner und Rosenberg benutzten die panchromatischen Spektralplatten von Wratten und Wainwright. Die Spaltweite betrug bei allen Aufnahmen 0,05 mm. Als Lichtquelle diente eine Nernstlampe von 0,5 Ampère und 220 Volt in Verbindung mit einer Kondensorlinse von 18 cm Brennweite, die vom Spalt 4 cm entfernt war und in deren einem Brennpunkt sich der Faden der Nernstlampe befand. Für die photographischen Aufnahmen fanden Heubner und Rosenberg diejenige Sättigung der Farbe am günstigsten, die sich ergibt, «wenn das Produkt Schichtdicke mal Konzentration (an Blut!) etwa = 0,01 cm wurde. (Also bei Benutzung der Cuvette von 21 mm lichter Weite eine Verdünnung von ca. 0,5:100.) Die zur hinreichenden Durchexponierung der Absorptionsstreifen erforderliche Belichtungszeit geben sie für ihre Nernstlampe zu 40 Sec. an.» Zur Verdünnung

<sup>1)</sup> W. Heubner und H. Rosenberg, Photographische Bestimmung der Intensitätsverteilung in Blutspektren. Biochem. Zeitschr., Bd. 38, 1912, S. 345.

des Blutes benutzten Heubner und Rosenberg stets 0,1%ige Sodalösung. Die relative Schwärzung in den Spektrogrammen bestimmten sie durch Vergleichen mit einem «photographischen Keil» in einem Hartmannschen Mikrophotometer, ein Verfahren, dessen Einzelheiten von ihnen genau angegeben sind. Heubner und Rosenberg kommen zu dem Ergebnis, daß die von ihnen untersuchten Blutarten keinen Unterschied der Farbe aufweisen, der mit der von ihnen erreichten Messungsgenauigkeit nachweisbar wäre. Ihre Bestimmungen des Absorptionsmaximums der beiden Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  beziehen sich nach Ausweis der Tabellenzeichen auf das Blut von Kaninchen, Hammel und Schwein. Als Mittelwerte geben sie an:  $\alpha = 5402$  (AE) =  $\mu\mu$  540,2 und  $\beta = 5769$  (AE) =  $\mu\mu$  576,9. Die größte Abweichung zwischen zwei von ihnen bestimmten Werten beträgt für den Streifen  $\alpha$  1,4  $\mu\mu$ , für  $\beta$  1,5  $\mu\mu$  (s. Tabelle IX auf S. 377 ihrer Abhandlung).

Angaben über den Streifen  $\gamma$  des Blutes sind in der Arbeit von Heubner und Rosenberg nicht enthalten.

Meine eigenen Untersuchungen hatten die genaue Ortsbestimmung der Streifen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  von Blut und Oxyhämoglobin zum Ziele und sind an Pferdeblut, krystallisiertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut und an Blut von gesunden erwachsenen Menschen<sup>1)</sup> ausgeführt. Die Untersuchungen erfolgten nach zwei Methoden, durch okulare Messungen im Gitterspektrometer und auf spektrogrammetrischem Wege.

### Anordnung der Versuche.

Zu den okularen Messungen benutzte ich ein Gitterspektrometer mit vertikalem Spalt, das nach den für solche Präzisionsinstrumente geltenden Grundsätzen eigens für die vorliegenden Untersuchungen in genauester Ausführung hergestellt war. Die Konstruktion entspricht in der Hauptsache dem

<sup>1)</sup> Das menschliche Blut war durch Venenpunktion gewonnen; es stammte von jungen Ärzten unserer Anstalt. Für die freundliche Überlassung dieses wertvollen Materials bin ich Herrn Dr. C. Hegler, erstem Sekundärarzt unserer Anstalt, zu besonderem Danke verpflichtet.

von mir an anderer Stelle beschriebenen und abgebildeten Gitterapparat; nur wurde im Hinblick auf die beabsichtigte Verwendung auf die mechanische Ausführung der Feinbewegung des Fernrohrs und der zugehörigen Mikrometerschraube noch größere Sorgfalt verwandt. Untersuchungen an Oxyhämoglobin wurden erst ausgeführt, nachdem das Gitterspektrometer sich bei oft wiederholten Messungen der Fraunhoferschen Absorptionslinien des Sonnenspektrums als genügend zuverlässig erwiesen hatte. — Das Gitterspektrometer besaß einen symmetrischen Präzisionsspalt, Glasachromate von je 20 cm Brennweite und einem Öffnungsverhältnis von 1:8, ein Meßokular von 25 mm Brennweite und einen Thorpschen Gitterabzug von 3600 Furchen pro engl. Zoll.<sup>1)</sup>

Die Beleuchtung des Spaltes erfolgte durch eine mit etwas Überspannung brennende Osramlampe mit U-förmigem Metallfaden und eine Kondensorlinse von 10 cm Brennweite. Die gute Leistung des Gitterspektrometers ist unter anderem dadurch gewährleistet, daß man bei der durch das 25 mm-Okular bewirkten 8-fachen Fernrohrvergrößerung die beiden Linien  $D_1$  und  $D_2$  des Sonnenspektrums deutlich getrennt sieht. Die Meßvorrichtung des Gitterspektrometers ist so eingerichtet, daß einer Umdrehung der Mikrometerschraube  $29,30 \mu\mu$  entsprechen. Da die Meßtrommel in 100 Teile eingeteilt ist, so sind 3,413 Teile der Teilung =  $1 \mu\mu$ . Unmittelbar vor Beginn und nach Beendigung jeder Reihe von Messungen wurde das Gitterspektrometer nach den Sonnenlinien  $D$  (Mitte von  $D_1$  und  $D_2$ , =  $\mu\mu$  589,3) und  $b_1$  ( $\mu\mu$  518,4) geeicht.

Einstellung:  $\mu\mu$  589,3 = 1000 } der Mikrometerteilung. —  
 $\mu\mu$  518,4 = 1242 }

Die spektrogrammetrische Ortsbestimmung erfolgt in zwei Phasen; sie erfordert die Herstellung geeigneter Spektro-

<sup>1)</sup> Ich möchte darauf hinweisen, daß die Gitter gleicher Furchenzahl und Größe in ihrer Leistung keineswegs gleichartig sind. Man muß daher bis auf weiteres zwecks Herstellung der Gitterspektrometer und -Spektrographen aus den im Handel (z. B. bei Carl Zeiß, Jena und A. Krüss, Hamburg) erhältlichen Gittern gleicher Furchenzahl die bestgeeigneten herausuchen.

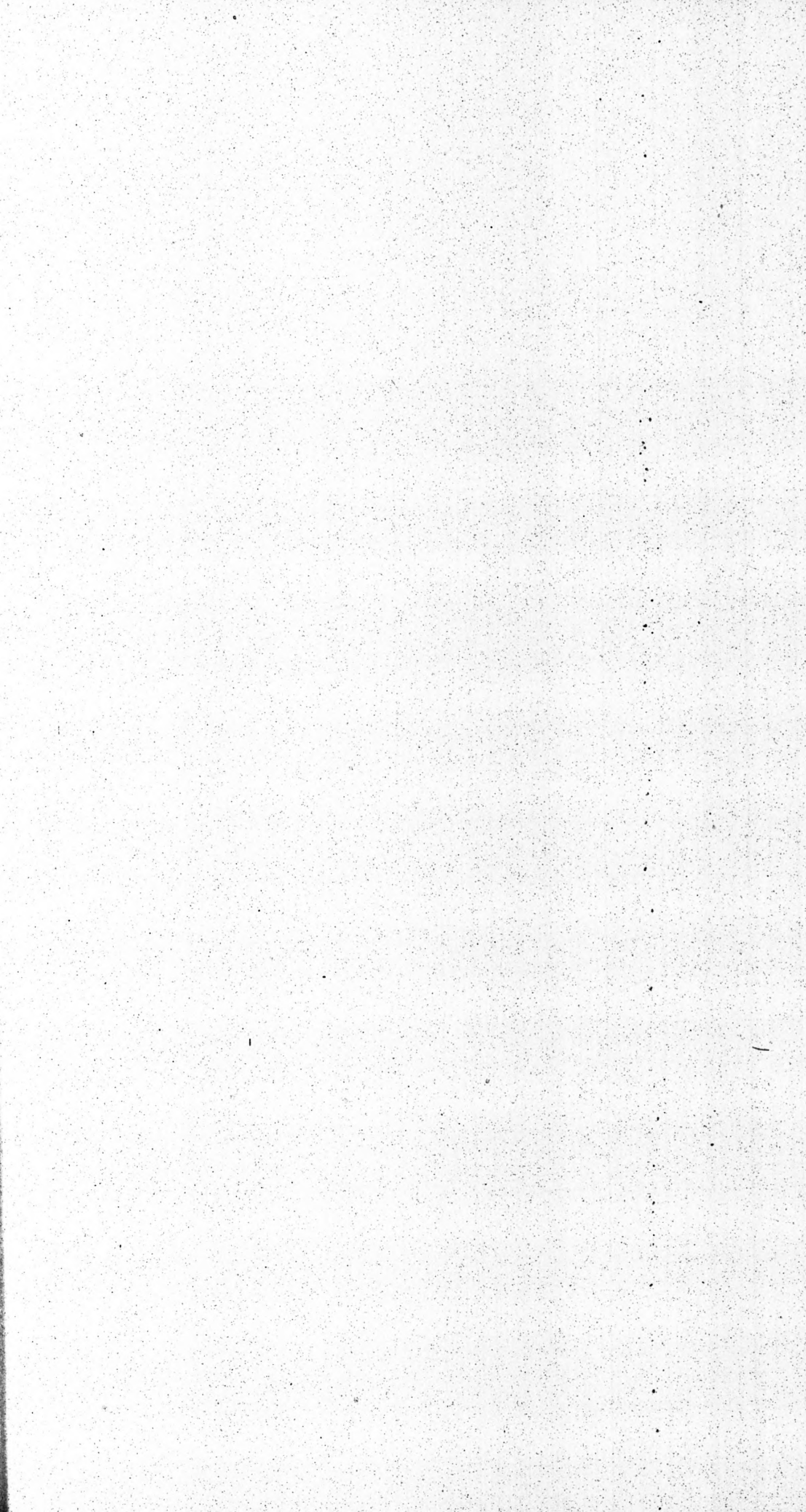
gramme und ihre genaue Ausmessung mit einem Plattenmikrometer. — Die spektrographischen Aufnahmen müssen bei möglichst engem Spalt und bei einer solchen Verdünnung der Farbstofflösungen ausgeführt werden, daß sich die den Absorptionsstreifen entsprechenden hellen Streifen des Negativs möglichst schmal, aber gerade noch gut meßbar erweisen. Man bestimmt nun die hellste Stelle oder, falls sich eine solche nicht deutlich genug darstellt, die Mitte.

Zu den entscheidenden Bestimmungen eignen sich nur solche Spektrogramme, bei denen nach der Art ihrer Herstellung ein störender Einfluß der sog. Plattenminima so gut wie vollständig ausgeschaltet ist. Das läßt sich auch bei Benutzung der besten bislang herstellbaren Spektralplatten nur durch sorgfältiges Ausprobieren der für jede Farbstofflösung geeigneten Versuchsbedingungen erreichen.

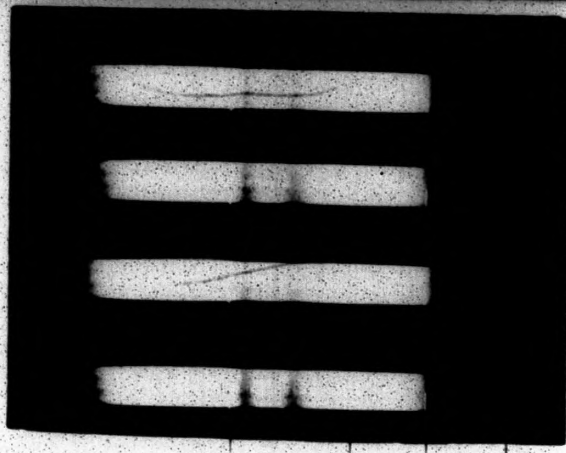
Die zu den genauen Ortsbestimmungen brauchbarsten Spektrogramme eignen sich für die Reproduktion weniger, da die sehr zarten Absorptionsstreifen durch die meist üblichen Reproduktionsverfahren nicht mehr deutlich genug wiedergegeben werden. Aus diesem Grunde habe ich von den für die entscheidenden Messungen benutzten Spektrogrammen nur einige wenige veröffentlicht. (Vgl. Fig. 1, 2, 8 auf der Spektraltafel.)

Zur Herstellung der Spektrogramme habe ich einen spektrographischen Apparat benutzt, der nach jeder Richtung Gewähr für zuverlässiges Arbeiten bot. Er war stabil gebaut und stand in einem vollkommen erschütterungsfreien, gleichmäßig temperierten und nur mir zugänglichen Raum. Der symmetrische Spalt des Apparates war nach der Konstruktion Wadsworths von Schmidt & Haensch (Berlin) hergestellt. Die beiden von C. Zeiß, Jena, hergestellten Objektive waren Glasachromate von 32 mm freier Öffnung und 25 cm Brennweite. Als Gitter benutzte ich eine auf einer planparallelen Glasplatte befestigte Thorpsche Kopie eines Original-Rowland-Gitters von 14486 Furchen pro engl. Zoll. Die von A. Krüß (Hamburg) hergestellte Kassettenführung war so eingerichtet, daß beim Verschieben der Kassette eine seitliche Versetzung vermieden wurde, ein Umstand, der für die Genauigkeit der späteren spektrogrammetrischen Ortsbestimmungen von ent-





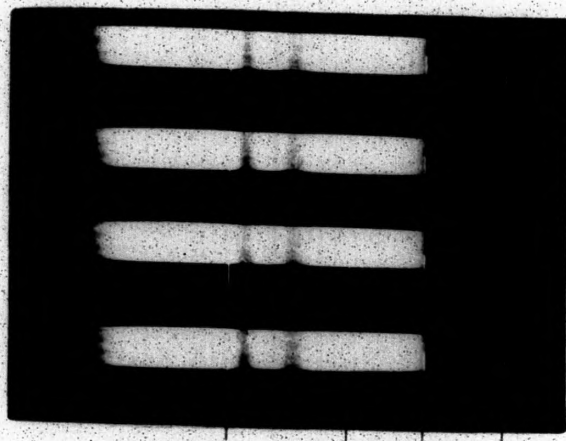
a  
b  
c  
d



587,6      501,6      447,2      388,9

2

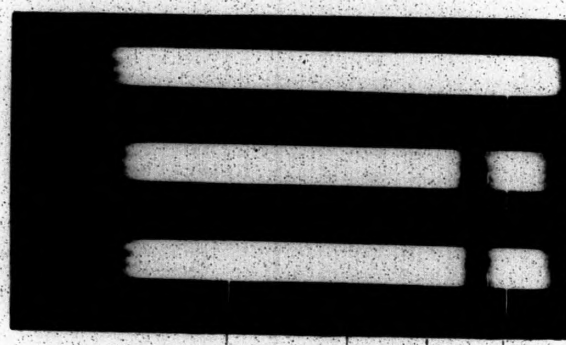
a  
b  
c  
d



587,6      501,6      447,2      388,9

3

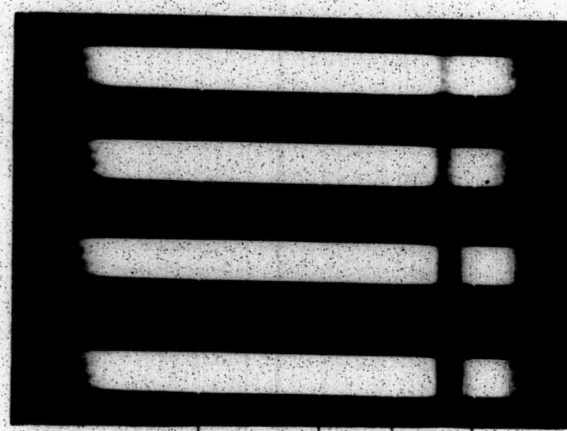
a  
b  
c



587,6      501,6      447,2      388,9

4

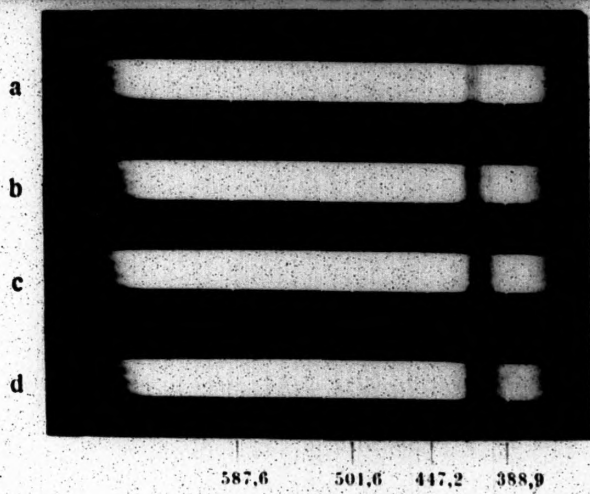
a  
b  
c  
d



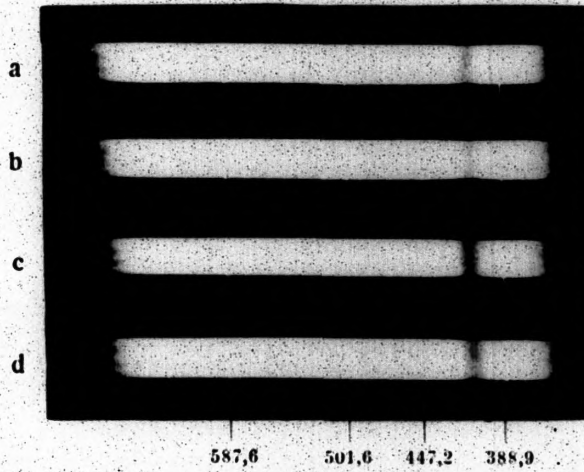
587,6      501,6      447,2      388,9

O. SCHUMM,

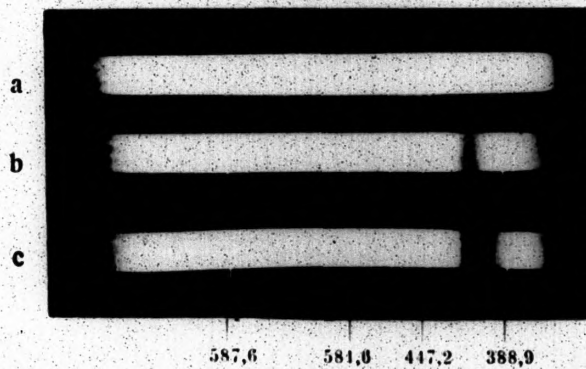
suchungen über die Absorptionserscheinungen



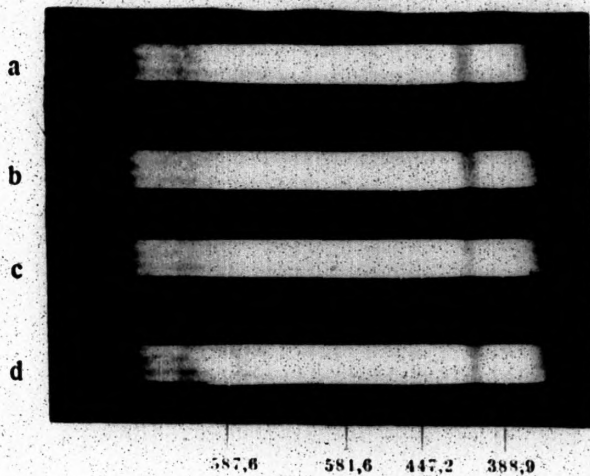
6

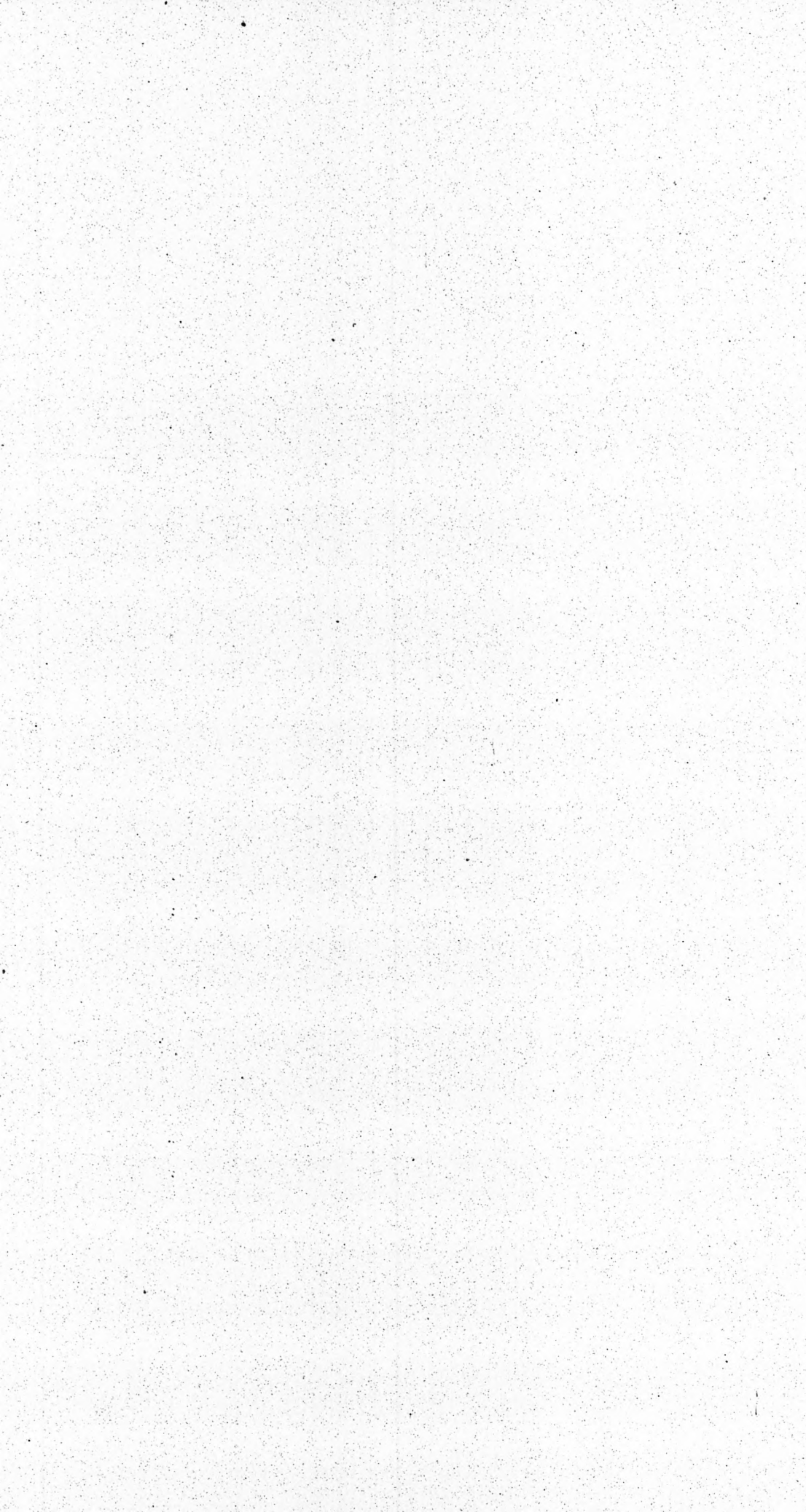


7



8





scheidender Bedeutung ist. Die Beleuchtung des Spalts erfolgte durch eine Nernst-Lampe (Zirkonlicht) und eine Kondensorlinse von 10 cm Brennweite. Zu allen Spektrogrammen habe ich die von W. Gummelt<sup>1)</sup> empfohlenen Spektralplatten benutzt.

Auf jeder Platte wurde außer dem Absorptionsspektrum das Spektrum des Heliums in der Anordnung aufgenommen, daß die Heliumlinien mit ihrem einen Ende in das Absorptionsspektrum hineinragten (s. a. die abgebildeten Spektrogramme). Die von Goetze in Leipzig hergestellte Heliumröhre habe ich durch Vergleichen ihres Spektrums mit den Fraunhoferschen Sonnenlinien im Gitterspektrometer geprüft. — Als Absorptionsgefäße dienten mir die bekannten rechteckigen Glaskästen mit planparallelen Wänden. Der Abstand zwischen Absorptionsgefäß und Spalt betrug stets 5 mm. Zum Ausmessen der Spektrogramme benutzte ich ein Plattenmikrometer mit einer genau gearbeiteten Mikrometerschraube und ein Meßmikroskop von Carl Zeiß. Als Meßlinien dienten mir die Heliumlinien  $\mu\mu$  587,6; 501,6; 447,2 und 388,9.<sup>2)</sup>

Eine ausführliche Schilderung der spektrographischen Technik liegt nicht im Plane dieser Abhandlung. Näheres

<sup>1)</sup> W. Gummelt, Zur Technik der Photographie von Absorptionsspektren. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen. Bd. 15, 3, S. 162, 1910.

<sup>2)</sup> Will man die Bestimmungen recht genau ausführen, so darf man sich nicht auf zwei Meßlinien beschränken. Würde man z. B. nur den Abstand der beiden Linien 587,6 und 388,9 auf der Platte ausmessen und danach eine Eichungskurve konstruieren, so würde diese nicht für alle Bezirke des Spektrums gleich genaue Berechnungen ermöglichen. Denn der Satz, daß bei den Gitterspektrogrammen die Ablenkung jedes Strahls seiner Wellenlänge proportional ist, gilt nur mit einer gewissen Einschränkung. In Wirklichkeit erweist sich auf den Gitterspektrogrammen die Ablenkung der violetten Strahlen etwas geringer als die in den roten Strahlen, eine Tatsache, die ich an den mit vier verschiedenen Gitterapparaten hergestellten Spektrogrammen nachweisen konnte. (Die zahlenmäßigen Belege sollen an anderer Stelle mitgeteilt werden.) Bei der Ortsbestimmung der Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  legte ich den Berechnungen eine für die Strecke 587,6—501,6 gültige Kurve zugrunde, für den Streifen  $\gamma$  eine zweite, die für die Strecke 447,2—388,9 richtig war.

findet man in der Abhandlung von Rost, Franz und Heise,<sup>1)</sup> in der zum ersten Male gute, vollständige Spektrogramme des Blutfarbstoffs und seiner Umwandlungsprodukte veröffentlicht worden sind, ferner in der oben erwähnten Mitteilung von W. Gummelt<sup>2)</sup> und in einer demnächst in E. Abderhaldens Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden erscheinenden Abhandlung des Verfassers über «Spektrographische Methoden».

### Darstellung der Versuchsergebnisse.

**Bestimmung der Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  mit dem Gitterspektrometer.**

**Frische Lösungen<sup>3)</sup> von frischem krystallisiertem Oxyhämoglobin aus defibriniertem Pferdeblut.**

Spaltweite 0,015 mm. Schichtdicke der Lösungen 10 mm.

Die Herstellung der Oxyhämoglobinkrystalle erfolgte nach den Angaben von Hoppe-Seyler—Thierfelder.<sup>4)</sup>

Die abgenutzten Krystalle wurden mit Wasser gewaschen, in Wasser gelöst und die Lösung klar filtriert. Zwischen der Entnahme des Pferdeblutes und der Untersuchung der Oxyhämoglobinlösungen lag jedesmal ein Zeitraum von 48 Stunden. Es gelangten nur solche Lösungen zur Untersuchung, die keine irgendwie in Betracht kommende Verunreinigungen durch Methämoglobin aufwiesen. Die Prüfung auf Methämoglobin wurde in möglichst konzentrierter Lösung der Oxyhämoglobinkrystalle ausgeführt.

<sup>1)</sup> Rost, Franz und Weise, Beiträge zur Photographie der Blut-spektra. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Berlin, 1909, bei J. Springer.

<sup>2)</sup> W. Gummelt, l. c.

<sup>3)</sup> Um sicher zu sein, daß die Lösungen von Blut oder Blutfarbstoff mit Sauerstoff gesättigt seien, wurden alle Lösungen mit Luft geschüttelt.

<sup>4)</sup> F. Hoppe-Seylers Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 8. Auflage von H. Thierfelder, Berlin 1909, S. 458.

## α-Streifen. 90 Einzelmessungen.

1042	1041,5	1039	1040	1041	1040	1041	1039	1040
1042	1041	1042	1039	1040	1041	1041	1040	1040
1041,5	1042,5	1042	1040	1041	1042	1040	1040	1039
1040	1039,5	1041	1042	1040	1040	1041	1040	1041
1040,5	1041	1040	1040	1040	1041	1042	1039	1040
1041	1042	1041	1042	1042	1041	1040	1040	1042
1040,5	1042	1041	1040	1040	1042	1041	1040	1041
1041	1040	1043	1041	1041	1041	1040	1041	1042
1042	1042	1042	1041	1042	1042	1041	1040	1041
1042	1041,5	1040	1041	1042	1040	1039	1040	1040

Mittel 1040,8 =  $\mu\mu$  577,4.

## β-Streifen. 110 Einzelmessungen.

1164	1163	1162	1164	1161	1164	1165	1160	1163	1163	1161
1162	1164	1163	1161	1161	1165	1164	1161	1163	1164	1161
1163	1163	1161	1161	1160	1164	1162	1161	1164	1162	1162
1163	1161	1160	1162	1161	1162	1161	1162	1163	1163	1161
1161	1162	1161	1163	1160	1161	1162	1164	1163	1164	1163
1163	1162	1164	1162	1160	1162	1163	1164	1162	1164	1162
1163	1163	1162	1164	1163	1163	1163	1163	1163	1162	1163
1161	1163	1164	1160	1164	1163	1161	1163	1162	1163	1160
1162	1162	1163	1163	1164	1162	1163	1161	1164	1163	1162
1163	1163	1163	1160	1162	1162	1162	1162	1161	1163	1160

Mittel 1162,4 =  $\mu\mu$  541,7.

FrISCHE Lösungen von frischem krystallisiertem Oxyhämoglobin aus defibriniertem Pferdeblut in 0,1%iger Sodalösung ergaben für beide Streifen dieselben Werte, wie die reinen wässrigen Lösungen.

In gleicher Weise wurden die Ortsbestimmungen an reinen wässrigen und an 0,1% Soda enthaltenden Verdünnungen von frischem defibriniertem Pferdeblut ausgeführt. Da die einzelnen Einstellungen keine größeren Abweichungen zeigten als in den obigen Tabellen, so erscheint eine Wiedergabe der vielen Zahlen überflüssig. Die gefundenen Mittelwerte sind:

für reine wässrige Verdünnung

$\alpha$ -Streifen 1040,5 =  $\mu\mu$  577,4

$\beta$ -Streifen 1163 =  $\mu\mu$  541,6

für die 0,1% Soda enthaltende Verdünnung

$\alpha$ -Streifen 1040,1 =  $\mu\mu$  577,6

$\beta$ -Streifen 1163 =  $\mu\mu$  541,6

Normales defibriniertes menschliches Blut habe ich ebenfalls in frischem Zustande untersucht und für Lösungen in reinem Wasser und in 0,1%iger Sodalösung gleiche Werte gefunden. Aus zahlreichen Einzelmessungen ergaben sich folgende Mittelwerte:

$\alpha$ -Streifen = 1040,3 =  $\mu\mu$  577,5

$\beta$ -Streifen = 1162,3 =  $\mu\mu$  541,8

**Bestimmung der Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  durch Ausmessen von Spektrogrammen.**

Frische Lösungen von frischem krystallisiertem Oxyhämoglobin aus defibriniertem Pferdeblut.

Spaltweite 0,03 mm. Schichtdicke der Lösungen 10 mm.

Die Herstellung und Verarbeitung der Oxyhämoglobinkrystalle erfolgte wie oben. Auch hier gelangten nur solche Lösungen zur Untersuchung, die keine irgendwie in Betracht kommenden Verunreinigungen durch Methämoglobin aufwiesen. Zwischen der Entnahme des Pferdeblutes und der Untersuchung der Oxyhämoglobinlösungen lag jedesmal ein Zeitraum von 48 Stunden.

$\alpha$ -Streifen. 200 Einzelmessungen.

1395	1397	1394	1395	1398	1400	1402	1402	1394	1395
1401	1398	1400	1400	1397	1398	1395	1403	1393	1400
1399	1402	1397	1400	1397	1395	1395	1400	1392	1395
1396	1399	1398	1398	1398	1396	1394	1396	1400	1398
1404	1397	1393	1401	1399	1396	1395	1399	1395	1400
1398	1399	1400	1398	1397	1398	1396	1396	1397	1396
1400	1400	1393	1397	1399	1403	1394	1398	1398	1398
1399	1399	1402	1401	1398	1397	1397	1400	1393	1396



## α-Streifen. 200 Einzelmessungen (Fortsetzung).

1400	1399	1394	1399	1397	1400	1399	1395	1395	1394
1398	1400	1394	1397	1398	1395	1394	1398	1400	1395
1390	1398	1401	1403	1394	1395	1395	1393	1397	1396
1392	1396	1400	1390	1398	1398	1400	1394	1392	1393
1390	1391	1393	1390	1395	1392	1394	1395	1391	1391
1390	1398	1404	1394	1398	1397	1396	1396	1397	1393
1389	1399	1400	1395	1396	1393	1393	1394	1394	1398
1388	1400	1396	1397	1394	1395	1397	1395	1395	1392
1392	1396	1396	1400	1391	1396	1402	1397	1398	1397
1394	1399	1402	1403	1399	1399	1396	1393	1395	1396
1398	1398	1401	1394	1403	1394	1391	1394	1393	1400
1390	1396	1400	1398	1396	1393	1394	1393	1398	1398

 Mittel 1397,1 =  $\mu\mu$  576,8.

## β-Streifen. 200 Einzelmessungen.

1915	1920	1913	1908	1913	1918	1918	1910	1914	1914
1914	1913	1922	1920	1915	1910	1913	1913	1923	1909
1922	1916	1924	1923	1914	1914	1920	1920	1915	1914
1913	1910	1909	1919	1917	1913	1914	1915	1909	1910
1920	1917	1906	1916	1911	1912	1922	1924	1914	1908
1914	1910	1908	1924	1912	1910	1924	1920	1918	1911
1926	1908	1924	1915	1908	1916	1916	1911	1913	1917
1919	1910	1920	1922	1911	1914	1925	1917	1912	1913
1920	1915	1923	1912	1915	1918	1926	1912	1910	1910
1923	1910	1925	1918	1912	1916	1923	1909	1915	1916
1914	1916	1910	1909	1920	1917	1921	1913	1921	1912
1917	1915	1918	1920	1914	1913	1924	1909	1918	1920
1908	1915	1926	1923	1917	1920	1920	1909	1913	1914
1917	1923	1908	1906	1911	1919	1918	1920	1911	1913
1923	1911	1925	1913	1913	1921	1912	1913	1912	1914
1912	1915	1924	1914	1920	1920	1921	1915	1913	1921
1922	1920	1923	1918	1918	1918	1919	1914	1908	1923
1913	1916	1907	1915	1916	1922	1917	1910	1907	1919
1916	1908	1916	1919	1912	1923	1919	1912	1916	1920
1914	1915	1914	1912	1921	1920	1914	1911	1917	1922

 Mittel 1915,8 =  $\mu\mu$  542,4.

In gleicher Weise habe ich Gitterspektrogramme von Lösungen der frischen Oxyhämoglobinkristalle in 0,1%iger Sodalösung hergestellt. Die Ausmessung der Spektrogramme ergab für die Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  keinen Unterschied in der Lage gegenüber den Lösungen in reinem Wasser.

FrISCHE Lösungen von frischem defibrinierten Pferdeblut in reinem Wasser und in 0,1%iger Sodalösung.

Spaltweite 0,03 mm. Schichtdicke 10 mm.

Reine wässrige Lösungen.

$\alpha$ -Streifen. 50 Einzelmessungen.

1394	1399	1402	1396	1391	1391	1393	1394	1400	1397
1396	1397	1400	1399	1401	1395	1395	1391	1397	1393
1404	1396	1397	1397	1391	1397	1394	1395	1392	1396
1394	1401	1399	1398	1393	1396	1397	1394	1397	1394
1394	1395	1401	1398	1391	1396	1392	1395	1393	1391

Mittel = 1395,8 =  $\mu\mu$  576,9.

$\beta$ -Streifen. 60 Einzelmessungen.

1917	1919	1907	1908	1911	1916	1919	1913	1920	1922
1927	1924	1913	1909	1923	1912	1920	1918	1915	1917
1923	1919	1917	1920	1926	1918	1922	1913	1917	1918
1922	1921	1911	1915	1923	1915	1926	1919	1920	1911
1925	1916	1917	1914	1919	1918	1915	1914	1915	1913
1924	1911	1916	1918	1922	1920	1916	1923	1912	1910

Mittel = 1917,4 =  $\mu\mu$  542,3.

0,1% Soda enthaltende Lösungen.

$\alpha$ -Streifen. 50 Einzelmessungen.

1401	1397	1395	1395	1398	1392	1395	1394	1403	1398
1397	1401	1394	1395	1394	1393	1397	1400	1398	1400
1400	1399	1390	1398	1392	1396	1393	1394	1394	1398
1399	1402	1393	1393	1393	1393	1400	1393	1400	1397
1400	1399	1397	1392	1396	1394	1393	1395	1395	1396

Mittel = 1396,1 =  $\mu\mu$  576,9.

## β-Streifen. 60 Einzelmessungen.

1929	1916	1921	1910	1920	1918	1913	1910	1917	1926
1923	1928	1914	1921	1915	1916	1912	1921	1915	1918
1927	1916	1919	1916	1924	1914	1916	1915	1917	1923
1922	1916	1923	1920	1918	1912	1921	1918	1918	1919
1924	1920	1919	1917	1923	1915	1915	1920	1925	1915
1926	1914	1916	1922	1913	1917	1913	1916	1918	1924

 Mittel = 1918,5 =  $\mu$  542,2.

Reine wässrige Lösungen von 24 Std. altengewaschenen Blutkörperchen aus defibriniertem Pferdeblut.<sup>1)</sup>

Spaltweite 0,03 mm. Schichtdicke der Lösungen 10 mm.

## α-Streifen. 100 Einzelmessungen.

1397	1396	1397	1404	1394	1400	1396	1399	1398	1390
1400	1398	1394	1393	1403	1402	1399	1403	1399	1400
1395	1404	1396	1398	1396	1399	1400	1398	1396	1397
1394	1402	1400	1394	1397	1400	1402	1404	1404	1400
1397	1397	1398	1396	1400	1399	1398	1401	1398	1398
1400	1395	1396	1398	1403	1399	1400	1404	1399	1402
1404	1395	1401	1396	1400	1400	1394	1398	1403	1400
1400	1398	1394	1396	1398	1397	1395	1402	1400	1399
1396	1401	1401	1397	1400	1400	1400	1400	1395	1395
1395	1396	1394	1399	1404	1402	1397	1399	1398	1398

 Mittel = 1398,5 =  $\mu$  576,7.

## β-Streifen. 100 Einzelmessungen.

1918	1907	1914	1918	1916	1910	1924	1910	1908	1919
1910	1918	1908	1916	1911	1911	1912	1915	1910	1910
1908	1907	1906	1918	1912	1914	1909	1911	1914	1926
1920	1911	1915	1916	1920	1911	1922	1920	1908	1923
1913	1910	1916	1920	1911	1912	1926	1914	1910	1921
1910	1907	1925	1909	1912	1914	1914	1908	1916	1915
1904	1925	1907	1919	1913	1907	1925	1907	1922	1918
1920	1917	1923	1912	1923	1911	1916	1915	1920	1921
1906	1907	1917	1907	1918	1908	1924	1912	1917	1916
1920	1925	1913	1924	1914	1913	1911	1915	1909	1918

 Mittel = 1914,6 =  $\mu$  542,5.

<sup>1)</sup> Frisches defibriniertes Pferdeblut wurde in einem hohen Zylinder mehrere Stunden stehen gelassen, das Plasma abgegossen, der Blutkörperchenbrei mit der 10fachen Menge 0,8%iger Kochsalzlösung gemischt und in flachen Schalen im Eischrank auf Eis stehen gelassen. Nach 20 Stunden wurde die Flüssigkeit abgegossen, der Bodensatz mit Wasser ab gespült und dann ein Teil des Blutkörperchenbreis in Wasser gelöst und filtriert.

**Frische Lösungen von frischem normalen, defibri-  
nierten menschlichen Blute in reinem Wasser und in  
0,1%iger Sodalösung.**

**Reine wässerige Lösungen.**

**$\alpha$ -Streifen. 40 Einzelmessungen.**

1399	1395	1393	1394	1392	1393	1395	1400
1397	1400	1397	1393	1393	1397	1396	1395
1392	1395	1392	1396	1395	1398	1398	1398
1395	1398	1398	1395	1392	1396	1395	1396
1390	1392	1393	1394	1397	1398	1394	1395

Mittel = 1395,3 =  $\mu\mu$  577,0.

**$\beta$ -Streifen. 40 Einzelmessungen.**

1911	1908	1914	1913	1912	1914	1913	1912
1917	1912	1920	1915	1909	1908	1916	1920
1913	1909	1913	1917	1918	1910	1924	1921
1915	1910	1914	1916	1915	1916	1919	1920
1913	1911	1910	1913	1910	1912	1915	1912

Mittel = 1914 =  $\mu\mu$  542,5.

**0,1% Soda enthaltende Lösungen.**

**$\alpha$ -Streifen. 50 Einzelmessungen.**

1402	1396	1390	1397	1402	1392	1397	1398	1400	1395
1393	1400	1391	1398	1393	1393	1394	1394	1396	1390
1397	1398	1390	1396	1398	1390	1401	1397	1390	1391
1399	1400	1390	1400	1399	1393	1393	1395	1393	1390
1402	1397	1393	1399	1393	1390	1392	1394	1391	1391

Mittel = 1395,1 =  $\mu\mu$  577,0.

**$\beta$ -Streifen. 50 Einzelmessungen.**

1920	1914	1912	1915	1925	1910	1920	1912	1920	1924
1914	1913	1910	1911	1917	1905	1916	1914	1915	1920
1913	1915	1916	1913	1909	1913	1910	1922	1924	1925
1923	1919	1907	1917	1919	1920	1923	1915	1914	1918
1920	1910	1910	1913	1915	1913	1914	1918	1918	1924

Mittel = 1915,9 =  $\mu\mu$  542,4.

**Bestimmung des  $\gamma$ -Streifens.**

Bei der Untersuchung über den  $\gamma$ -Streifen fand ich, daß dessen Lage durch Faktoren beeinflußt werden kann, die auf die Lage der Streifen  $\alpha$  und  $\beta$  keine oder doch nur eine unbedeutende Einwirkung zeigen. Dadurch wurden zahlreiche Versuche notwendig, in denen zunächst festgestellt werden konnte, daß sich hinsichtlich der Lage des  $\gamma$ -Streifens beträchtliche Unterschiede ergeben können, je nachdem die Spektrogramme von reinen wässerigen oder von sodahaltigen Lösungen hergestellt werden. —

Die erforderlichen Spektrogramme habe ich sämtlich bei einer Spaltweite von 0,03 mm und einer Schichtdicke der Lösungen von 10 mm hergestellt. Der Gehalt der Lösungen entsprach einer Blutverdünnung von 1 : 1000. Es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß die allgemeinen Versuchsbedingungen in den vergleichenden Untersuchungen dieselben waren. —

**Frische Lösungen von frischem krystallisiertem Oxyhämoglobin aus defibriniertem Pferdeblut.<sup>1)</sup>**

Reine wässerige Lösungen. 50 Einzelmessungen.

3934	3935	3930	3929	3931	3936	3943	3948	3943	3933
3937	3936	3933	3933	3933	3930	3945	3941	3939	3930
3934	3935	3936	3932	3935	3937	3942	3946	3938	3934
3933	3932	3929	3934	3930	3933	3946	3942	3934	3931
3934	3933	3933	3935	3932	3932	3939	3943	3936	3930

Mittel = 3935,6 =  $\mu\mu$  407,9.

Eine zweite Versuchsreihe ergab für reine wässerige Lösungen von frischem krystallisiertem Oxyhämoglobin vom Pferde den Wert 3942,1 =  $\mu\mu$  407,4.

<sup>1)</sup> Betreffs der Herstellung der Krystalle und der Lösungen gilt das früher Gesagte. Alle Lösungen wurden filtriert.

## 0,1% Soda enthaltende Lösungen. 60 Einzelmessungen.

3851	3851	3851	3855	3854	3851	3849	3854	3848	3850
3848	3853	3855	3856	3852	3852	3851	3853	3854	3853
3849	3852	3852	3858	3851	3848	3853	3849	3855	3850
3845	3850	3853	3856	3852	3853	3848	3851	3850	3858
3852	3851	3855	3850	3848	3846	3853	3850	3851	3851
3850	3855	3858	3859	3850	3852	3851	3856	3855	3855

Mittel 3852,0 =  $\mu\mu$  413,5.Frische Lösungen von frischem defibrinierten  
Pferdeblut.

## Reine wässrige Lösungen. 50 Einzelmessungen.

3925	3923	3925	3925	3916	3915	3921	3922	3918	3922
3920	3924	3921	3916	3917	3920	3916	3920	3921	3925
3919	3918	3923	3923	3925	3925	3924	3921	3922	3923
3920	3923	3924	3915	3920	3916	3919	3920	3925	3926
3915	3920	3923	3924	3921	3925	3917	3919	3921	3918

Mittel = 3920,9 =  $\mu\mu$  408,9.

## 0,13% Soda enthaltende Lösungen. 50 Einzelmessungen.

3857	3853	3856	3854	3858	3855	3856	3854	3856	3857
3859	3855	3860	3855	3860	3859	3855	3855	3854	3858
3855	3860	3856	3860	3858	3854	3857	3858	3857	3856
3853	3859	3854	3857	3859	3856	3856	3859	3858	3856
3860	3858	3857	3856	3858	3858	3855	3854	3853	3858

Mittel = 3856,6 =  $\mu\mu$  413,2.

Weitere Versuchsreihen an frischem defibrinierten Pferdeblut ergaben, daß der Ort des Streifens  $\gamma$  bei reinen wässrigen Lösungen bedeutende Schwankungen aufweisen kann. Ich fand bei dem Blut von zwei verschiedenen Pferden die Werte  $\mu\mu$  411,3 und 409,2. — Lösungen, die 0,1% Soda enthielten, ergaben gut übereinstimmende Werte: bei dem Blut von fünf Pferden schwankte der Ort des Streifens  $\gamma$  von 413,1 bis 413,7 und betrug im Mittel  $\mu\mu$  413,36, oder abgerundet  $\mu\mu$  413,4. —

0,1% Soda enthaltende Lösungen von defibriniertem Pferdeblut, das 24 Stunden im verschlossenen Gefäß auf Eis aufbewahrt worden war, ergaben den Wert  $\mu\mu$  413,3.

**FrISCHE LÖSUNGEN von frischem, normalen, defibri-  
nierten menschlichen Blute.**

Reine wässrige Lösungen. 60 Einzelmessungen.

3849	3852	3853	3851	3853	3853	3851	3852	3851	3856
3855	3853	3854	3854	3851	3852	3850	3849	3855	3858
3853	3851	3851	3849	3853	3856	3850	3850	3852	3859
3850	3853	3849	3853	3854	3854	3851	3849	3857	3858
3851	3852	3851	3854	3850	3851	3851	3847	3856	3857
3847	3854	3853	3848	3855	3850	3852	3848	3857	3855

Mittel = 3852,4 =  $\mu\mu$  413,5.

0,1% Soda enthaltende Lösungen. 60 Einzelmessungen.

3843	3848	3843	3844	3842	3841	3847	3844	3847	3847
3841	3844	3847	3846	3839	3845	3841	3847	3844	3844
3846	3843	3846	3841	3846	3842	3848	3848	3840	3841
3843	3842	3842	3846	3839	3845	3842	3845	3845	3843
3845	3847	3848	3842	3842	3848	3844	3846	3847	3847
3847	3842	3847	3841	3846	3844	3846	3844	3945	3844

Mittel = 3844,3 =  $\mu\mu$  414,0.

**FrISCHEs defibriniertes Blut eines andern gesunden  
Menschen ergab folgende Werte:**

Reine wässrige Lösungen. 50 Einzelmessungen.

3865	3864	3865	3866	3874	3869	3875	3877	3875	3878
3870	3868	3868	3867	3873	3873	3876	3875	3877	3879
3871	3865	3870	3865	3871	3870	3874	3878	3873	3882
3866	3868	3867	3867	3870	3876	3877	3879	3872	3880
3870	3866	3868	3866	3873	3874	3876	3873	3880	3877

Mittel = 3872 =  $\mu\mu$  412,1.

0,1% Soda enthaltende Lösungen. 40 Einzelmessungen.

3842	3848	3847	3842	3848	3847	3845	3847	3849	3847
3845	3847	3848	3845	3849	3849	3848	3849	3846	3848
3847	3848	3844	3844	3847	3845	3844	3847	3847	3847
3846	3845	3843	3847	3848	3846	3847	3848	3849	3849

Mittel = 3846,6 =  $\mu\mu$  413,8.

Das Blut eines dritten normalen Menschen ergab unter denselben Bedingungen für:

Reine wässrige Lösungen: 3881,7 =  $\mu\mu$  411,5

0,1% Soda enthaltende Lösungen: 3843 =  $\mu\mu$  414,1

Das Blut eines vierten normalen Menschen ergab für:

Reine wässrige Lösungen: 3855 =  $\mu\mu$  413,3

0,1% Soda enthaltende Lösungen: 3839 =  $\mu\mu$  414,4

Das Blut eines fünften normalen Menschen ergab für 0,1% Soda enthaltende Lösungen 3845,4 =  $\mu\mu$  413,9 und für 0,2% Soda enthaltende Lösungen den gleichen Wert.

Blut eines normalen Menschen, das bei 15° C. 24 Stunden lang im verschlossenen Gefäße gestanden hatte, ergab für 0,1% Soda enthaltende Lösungen den Wert 414,0.

Blut eines anderen normalen Menschen, das 40 Stunden lang im verschlossenen Gefäße auf Eis gestanden hatte, ergab für 0,1% Soda enthaltende Lösungen den Wert  $\mu\mu$  413,7.

### Zusammenfassung.

#### I.

##### a) $\alpha$ -Streifen und $\beta$ -Streifen des Oxyhämoglobins.

Bei den okularen Messungen im Gitterspektrometer ergaben sich für Pferdeblut, krystallisiertes Oxyhämoglobin aus Pferdeblut, und für menschliches Blut nur sehr geringe, durchaus innerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegende Unterschiede. Ein Zusatz von 0,1% krystallisiertem Natriumcarbonat hat auf die Lage der dunkelsten Stelle der Streifen keinen nachweisbaren Einfluß. Die durch die okularen Messungen im Gitterspektrometer gefundenen Durchschnittswerte sind:

$$\alpha = \mu\mu 577,5; \quad \beta = \mu\mu 541,7.$$

Auf spektrophotographischem Wege konnte ich für den Ort der Streifen Unterschiede weder zwischen Menschenblut und Pferdeblut noch zwischen Blutlösungen und Lösungen von krystallisiertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut feststellen. Ein Zusatz von 0,1% krystallisiertem Natriumcarbonat hat auf die Lage des Absorptionsmaximums der Streifen keinen nachweis-



baren Einfluß. Die durch die spektrogrammetrischen Bestimmungen gefundenen Durchschnittswerte sind:

$$\alpha = \mu\mu 576,9; \quad \beta = \mu\mu 542,4.$$

b)  $\gamma$ -Streifen des Oxyhämoglobins.

Bei den untersuchten Blutarten (Menschen- und Pferdeblut) hat der  $\gamma$ -Streifen eine bestimmte, durch die spektrogrammetrische Untersuchung genau feststellbare Lage, falls die Lösungen 0,1% Soda enthalten und klar filtriert sind. Die Durchschnittswerte sind für:

0,1% Soda enthaltende Lösungen von Pferdeblut  $\gamma = \mu\mu 413,4$ .

0,1% „ „ „ „ „ krystalli-  
siertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut }  $\gamma = \mu\mu 413,5$ .

0,1% Soda enthalt. Lösungen von norm. Menschenblut  $\gamma = 414,0$ .

Blut vom Menschen oder Pferd, das 24 Stunden lang im verschlossenen Gefäße auf Eis aufbewahrt worden war, ergab dieselben Werte wie frisches Blut.

Bei reinen wässerigen Lösungen, sowohl von Menschenblut wie von Pferdeblut, findet man schwankende Werte, die untereinander (bei Blut von verschiedenen Individuen) und von den für sodahaltige Lösungen ermittelten festen Werten stark abweichen können. Wegen des letzteren Punktes wolle man die in Fig. 3 bis 8 der Spektraltafel reproduzierten Spektrogramme vergleichen.<sup>1)</sup> — Wieweit die Veränderlichkeit der Lage des Streifens von der mehr oder weniger starken Opalescenz der reinen wässerigen Blutlösungen abhängig ist, bedarf weiterer Untersuchungen. —

Reine wässrige Lösung von krystallisiertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut ergab für den  $\gamma$ -Streifen ebenfalls Werte, die von denen der sodahaltigen Oxyhämoglobinlösungen bedeutend abweichen. Die mögliche Größe der Unterschiede ergibt sich aus folgender Zusammenstellung der beobachteten stärksten Abweichungen:

<sup>1)</sup> Einige der Spektren (Fig. 7c und 8) sind etwas gekrümmt, ein Mangel, der den Originalspektrogrammen nicht anhaftet, sondern erst durch die für die Vervielfältigung erforderliche Ablösung der Gelatine-schicht von der Glasplatte entstanden ist.

	Reine wässrige Lösung	0,1% Soda enthaltende Lösung
Frisches normales defibriertes menschliches Blut	$\mu\mu$ 411,5	$\mu\mu$ 414,1
Frisches defibriertes Pferdeblut	• 408,9	• 413,2
Frisches krystallisiertes Oxy- hämoglobin aus Pferdeblut	• 407,9	• 413,5

Für die analytische Praxis dürfte daher zwecks Bestimmung des  $\gamma$ -Streifens in erster Linie die Untersuchung sodahaltiger Blutlösungen in Betracht kommen.

## II.

Die vorliegende Untersuchung liefert keine Anhaltspunkte für die Annahme, daß die Absorptionsstreifen von Oxyhämoglobin verschiedener Herkunft sich durch ihre Lage nachweisbar unterscheiden. Das gilt nicht nur für die im sichtbaren Spektrum liegenden Streifen  $\alpha$  und  $\beta$ , sondern auch für den nur durch spektrogrammetrische Untersuchung genau bestimmbaren Streifen  $\gamma$  im Violett, dessen Durchschnittswerte zu  $\mu\mu$  413,4 für Pferdeblut und 414 für Menschenblut ermittelt wurden, also fast zusammenfallen. Diese Zahlen stimmen gut zu dem von A. Gamgee<sup>1)</sup> auf anderem Wege, durch Ausmessen von Quarzprismenspektrogrammen, für den  $\gamma$ -Streifen des Oxyhämoglobins gefundenen Werte  $\mu\mu$  414.

Den von Lewin, Miethé und Stenger<sup>2)</sup> für den Streifen  $\alpha$  bei Lösungen von krystallisiertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut gefundenen Wert  $\mu\mu$  579 habe ich trotz oft wiederholter Bestimmungen nicht bestätigen können. Vielmehr ergaben die nach zwei verschiedenen Methoden, durch okulare Messungen und durch spektrogrammetrische Bestimmung, ausgeführten Untersuchungen, daß der  $\alpha$ -Streifen des Oxyhämoglobins im Gitterspektrum jedenfalls näher bei  $\mu\mu$  577 als bei  $\mu\mu$  579 auftritt. —

<sup>1)</sup> l. c.

<sup>2)</sup> l. c.

Über die Unterschiede zwischen den im Prismenspektrum und im Gitterspektrum ermittelten Werten gibt folgende Zusammenstellung Auskunft:

Streifen	Prismenspektrum (okulare Messungen)	Gitterspektrum	
		Okulare Messungen	Spektrogrammetrische Bestimmungen
$\alpha$	$\mu\mu$ 578 (Schumm) > 578,1 (Formanek)	577,5 (Schumm)	576,9 (Schumm) 576,9 (Heubner und Rosenberg)
$\beta$	$\mu\mu$ 542 (Schumm) > 541,7 (Formanek)	541,7 (Schumm)	542,4 (Schumm) 540,2 (Heubner und Rosenberg)

Eine bedeutendere (ca.  $1 \mu\mu$  betragende) Abweichung besteht demnach hinsichtlich des Streifens  $\alpha$  nur zwischen den durch spektrogrammetrische Bestimmungen im Gitterspektrum und den durch okulare Messungen im Prismenspektrum gefundenen Werten, während der Unterschied zwischen den im Prismenspektrum bzw. Gitterspektrum durch okulare Messungen gefundenen Werten als ganz geringfügig zu bezeichnen ist.

In Anbetracht der geringeren Schärfe des  $\beta$ -Streifens kann man den kleinen Unterschieden, die zwischen den von Formanek und vom Verfasser nach den verschiedenen Verfahren ermittelten Werten bestehen, eine Bedeutung nicht zuerkennen. Der von Heubner und Rosenberg für den  $\beta$ -Streifen bei Tierblut gefundene Mittelwert 540,2 zeigt eine etwas stärkere Abweichung. Bei der Schwierigkeit, die eine genaue spektrogrammetrische Ortsbestimmung des Streifens  $\beta$  bietet, wird man aber auch aus dieser Abweichung vorläufig keine weitergehenden Schlüsse ziehen können.

#### Erklärung der Spektraltafel.

Fig. 1 und 2 =  $\alpha$ - und  $\beta$ -Streifen, Figur 3–8 =  $\gamma$ -Streifen.  
Schichtdicke der Lösungen bei allen Aufnahmen = 10 mm.

Fig. 1. a und b = 0,1% Soda enthaltende Lösungen von krystallisiertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut. Exp. 90 bzw. 60 Sek.  
 c und d = 0,1% Soda enthaltende Lösung von normalem menschlichen Blut. Verdünnung 1:150. Exp. 90 bzw. 60 Sek.

Fig. 2. a und b = 0,1% Soda enthaltende Lösung von normalem menschlichen Blut. Verdünnung 1:150. Exp. 90 bzw. 60 Sek.

c und d = reine wässrige Lösung desselben Blutes. Verdünnung 1:150. Exp. 90 bzw. 60 Sek.

Fig. 3. a = leeres Spektrum.

b = 0,1% Soda enthaltende	} durch lockeres Filtrierpapier filtrierte Lösung von Pferdeblut. Verdünnung je 1:1000. Gleiche Exp.
c = reine wässrige	

Fig. 4. a und b = 0,1% Soda enthaltende	} Lösung von krystallisiertem Oxyhämoglobin aus Pferdeblut. Exp. je 85 und 70 Sek.
c und d = reine wässrige	

Fig. 5. a und b = 0,1% Soda enthaltende	} Lösung von Pferdeblut. Verdünnung 1:850. Exp. je 60 und 40 Sek.
c und d = reine wässrige	

Fig. 6. a und c = 0,1% Soda enthaltende	} Lösung von normalem menschlichen Blut. Verdünnung ca. 1:1000. Exp. je 60 und 40 Sek.
b und d = reine wässrige	

Fig. 7. a = leeres Spektrum.

b = 0,1% Soda enthaltende filtrierte Lösung von 24 Stunden altem menschlichen Blute.

c = reine wässrige unfiltrierte und stark opalisierende Lösung deselben Blutes in gleicher Verdünnung wie «b». Gleiche Exp.

Fig. 8. a und c = 0,1% Soda enthaltende	} Lösung von normalem menschlichen Blut. Verdünnung ca. 1:1200. Exp. je 60 und 50 Sek.
b und d = reine wässrige	