

# Über den Nachweis von Blutfarbstoff durch seinen an der Grenze des sichtbaren Violett liegenden Absorptionsstreifen.

Von

**O. Schumm.**

(Nach gemeinschaftlich mit W. Gummelt ausgeführten Versuchen.)

Mit zwei Tafeln in Lichtdruck.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.)

(Der Redaktion zugegangen am 16. Oktober 1909.)

Daß der rote Blutfarbstoff und seine nächsten Umwandlungsprodukte charakteristische Absorptionsstreifen aufweisen, die, auf der Grenze des sichtbaren spektralen Violett liegend, zwar durch direkte (visuelle) spektroskopische Beobachtung nicht wahrnehmbar, durch geeignete spektrographische Vorrichtungen dagegen nachweisbar sind, ist seit geraumer Zeit bekannt. Genaue Untersuchungen darüber sind zuerst von Gamgee ausgeführt worden. Gamgee veröffentlichte im Jahre 1896 Spektrogramme von Lösungen des Oxyhämoglobins und einiger seiner Umwandlungsprodukte, zu deren Herstellung er sich eines Quarzspektrographen von Carl Zeiß in Jena bedient hatte. Die genaue Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen wurde durch die photographische Aufnahme des Sonnenspektrums auf der gleichen Platte ermöglicht.

Im Jahre 1907 berichteten Lewin, Miethe und Stenger in einer größeren Abhandlung über die Ergebnisse ihrer Versuche zur photographischen Darstellung der Absorptionsspektren des Blutfarbstoffs und einer Anzahl verwandter Farbstoffe. Sie bedienten sich zur Herstellung der Spektrogramme eines Gitterspektrographen, der mit einem Thorpeschen Abzug eines Rowlandschen Gitters ausgerüstet war. Lewin, Miethe und Stenger wiesen unter anderem auf die praktische Bedeutung des oben bezeichneten Absorptionsstreifens für den Nachweis des Blutfarbstoffs hin. Bei ihren Messungen fanden sie die Lage des Absorptionstreifens zu  $\mu\mu$  415. In der von ihnen

veröffentlichten Spektraltafel sind die im sichtbaren Teil des Spektrums und die an der Grenze des sichtbaren Violett liegenden Absorptionsstreifen nicht durch eine einzige Aufnahme, sondern getrennt dargestellt.

Vollständige Spektrogramme des Blutfarbstoffs, die in einer Aufnahme einheitlich die sichtbaren und die an der Grenze des sichtbaren Violett liegenden Absorptionsstreifen des Blutfarbstoffs in sehr geeigneter Weise wiedergeben, sind ganz vor kurzem von E. Rost veröffentlicht worden. Rost benutzte zur Herstellung seiner Spektrogramme ebenfalls einen mit einem Thorpeschen Gitterabzug ausgestatteten Gitterspektrographen.

Falls es sich nur um den einfachen Nachweis des roten Blutfarbstoffs handelt, wird man sich in manchen Fällen auf den Nachweis des einen an der Grenze des sichtbaren Violett liegenden Absorptionsstreifens beschränken können, der in einigermaßen reinen wässerigen Lösungen noch in großer Verdünnung wahrzunehmen ist. Für den Nachweis dieses Streifens, der kurz als «Violettstreifen» bezeichnet werden mag, hat man bislang besonders folgende Verfahren benutzt: 1. die Photographie, 2. die Erzeugung eines reellen Bildes auf einem Baryumplatincyanschirm. Letzteres Verfahren ist schon von Gamgee und dann in etwas abgeänderter Form von Lewin und Miethe angewandt worden. Die Apparatur von Lewin und Miethe hatte folgende Anordnung. Das von einem Zirkonbrenner ausgehende Licht fällt auf ein die passend verdünnte Blutlösung enthaltendes Reagenzglas, das so zwischen Lichtquelle und Spektralspalt aufgestellt ist, daß der Spalt im Brennpunkte des als Kondensator wirkenden Reagenzglases steht. Hinter dem Spalt ist ein lichtstarkes photographisches Objektiv und ein Flintglasprisma aufgestellt, dessen brechender Winkel nicht mehr als  $60^\circ$  beträgt. Stellt man nun in geeignetem Abstand hinter dem Prisma einen Baryumplatincyanschirm auf, so entsteht auf letzterem als reelles Bild ein Absorptionsspektrum, das den Violettstreifen aufweist.

Zum photographischen Nachweis des Violettstreifens benutzte Gamgee einen Quarzspektrographen, Lewin, Miethe und Stenger, ferner Rost einen Gitterspektrographen.

Von der Überlegung ausgehend, daß ein Prismenspektralapparat, dessen Optik neben genügender Durchlässigkeit der sichtbaren Strahlen eine erhebliche Durchlässigkeit für die ultravioletten Strahlen besitzt, sich nicht nur für direkte spektroskopische Beobachtungen, sondern auch besonders gut zum spektrographischen Nachweis des Violettstreifens eignen müßte, habe ich den nachstehend abgebildeten Prismenspektralapparat hergestellt (s. Fig. 1 und 2). Er besitzt, abweichend von den gebräuchlichen Spektralapparaten, ein von Carl Zeiß aus dem neuen Jenaer U. V.-Flintglas hergestelltes Prisma. Die Objektive, die mir von Carl Zeiß in Jena in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellt wurden, sind ebenfalls aus den neuen Jenaer U. V.-Gläsern hergestellt worden. Ihre äquivalente Brennweite beträgt 250 mm. Bei Benutzung eines Okulars von etwa 25 mm Brennweite liefert das Spektroskop ein sehr lichtstarkes und reines Spektrum, das bei engem Spalt die Fraunhoferschen Linien in ausgezeichneter Schärfe zeigt. Auch Absorptionsstreifen von Farbstofflösungen erscheinen sehr scharf.

Zu genauen Ortsbestimmungen dient eine Mikrometerschraube. Außerdem besitzt der Apparat eine Wellenlängenskala, die in dem optischen Institut von A. Krüss, Hamburg, hergestellt worden ist. Entfernt man durch Lösen einiger Schrauben den Fernrohrträger nebst dem Fernrohr und befestigt an seiner Stelle die in Figur 3 abgebildete U. V.-Spektralkamera, so hat man einen Apparat, der sich zum photographischen Nachweis des Violettstreifens in der Tat vorzüglich eignet. Die Konstruktion der Kamera habe ich von dem vor einiger Zeit<sup>1)</sup> beschriebenen Gummeltschen Spektrographen übernommen. Sie entspricht fast genau der dort gegebenen Beschreibung, enthält jedoch ein von Carl Zeiß, Jena, aus U. V.-Gläsern hergestelltes neues photographisches Teleobjektiv mit veränderlicher Brennweite, für dessen gefällige Überlassung ich der Firma Zeiß zu bestem Danke verpflichtet bin. Die große allgemeine Lichtstärke

<sup>1)</sup> Vgl. O. Schumm, Klinische Spektroskopie. Jena 1909, bei Gustav Fischer.

und die Durchlässigkeit für einen beträchtlichen Teil der ultravioletten Strahlen haben sich nun als wesentliche Vorzüge dieses Spektrographen erwiesen. Er ermöglicht es, gute Spektrogramme des Violettstreifens bei engem Spalte und verhältnismäßig sehr kurzer Belichtung zu erhalten. Daß die Spaltweite einen erheblichen Einfluß auf die Beschaffenheit des Spektrums ausübt, ist bekannt. Es sei nur daran erinnert, daß ein Spektroskop die Fraunhoferschen Linien nur bei engem Spalt scharf erkennen läßt. In einem guten Spektralapparat Bunsenscher Konstruktion, der bei 0,03 mm Spaltweite die Fraunhoferschen Linien sehr scharf zeigte, erschienen sie bei 0,1 mm Spaltweite ganz verwaschen und waren bei 0,2 mm Spaltweite nur noch eben angedeutet.

Die Aufnahmen zu den abgebildeten Spektrogrammen Figur 4 und 5 sind mit dem beschriebenen U. V.-Prismenspektrographen gemacht worden. Figur 4a und b zeigt die Spektrogramme einer Lösung von 1 Teil Hammelblut in 1000 Teilen bzw. 2000 Teilen Wasser. Oberhalb und unterhalb ist zur Orientierung über die Lage des Violettstreifens das Linienspektrum des Heliums mitphotographiert worden. Der Violettstreifen ist durch «V.» kenntlich gemacht. Die außerdem noch vorhandenen schwächeren dunkelen Streifen kommen nicht dem Blutspektrum zu, sondern werden durch die sogenannten Plattenminima verursacht. Sie entstehen dadurch, daß die Lichtstrahlen verschiedener Wellenlänge die photographische Platte verschieden stark beeinflussen. Bei der benutzten Plattensorte (Spektralplatte) von Wratter und Wainwright, die sich bei den Untersuchungen von E. Rost bewährt hat,<sup>1)</sup> wird der Nachweis des Violettstreifens durch die Plattenminima nicht beeinflußt. Figur 5a und b zeigt die Spektrogramme der Lösung eines Blutflecks und einer Lösung von 1 Teil Blut in 1000 Teilen Wasser. (Bei V der Violettstreifen, links davon die durch die Plattenminima verursachten schwächeren Streifen.) Der auf Leinen befindliche 9 Monate alte Blutfleck wurde mit mehreren Kubikzentimetern Wasser ausgelaugt und die Lösung filtriert. Oberhalb und unterhalb ist wieder das Heliumspektrum photo-

<sup>1)</sup> Nach einer freundlichen brieflichen Mitteilung an den Verfasser.



graphiert worden. Die Spaltweite betrug bei allen Aufnahmen 0,03 mm, die Schichtdicke 10 mm, die Expositionszeit bei Figur 4 sechs Sekunden und bei Figur 5 sieben Sekunden. Als Absorptionsgefäß genügt ein Glaskästchen, bei dem zwei einander gegenüberliegende Wände aus planparallelen U. V.-Glasplatten bestehen.

Es gelingt freilich auch mit einem der bislang gebräuchlichen Prismenspektrographen den Violetstreifen des Blutfarbstoffs photographisch darzustellen. Figur 6 zeigt ein derartiges, mit dem Gummeltschen<sup>1)</sup> Spektrographen hergestelltes Spektrogramm, auf dem oben das leere Spektrum, darunter das Spektrum einer Lösung von 1 Teil Blut in 1000 Teilen Wasser bei 10 mm Schichtdicke und drittens das Spektrum der durch Auslaugen eines alten Blutflecks erhaltenen Flüssigkeit bei 20 mm Schichtdicke dargestellt ist. Die Spaltweite betrug bei dieser Aufnahme 0,03 mm, die Expositionszeit 45 Sekunden. Ein solches Spektrogramm mag unter Umständen auch genügen; weit besser gelingt der photographische Nachweis jedoch mit dem beschriebenen U. V.-Prismenspektrographen. Daß dieser Apparat auch zur Herstellung von guten Spektrogrammen des sichtbaren Teils des Spektrums geeignet ist, zeigt die Figur 7, die a) das Spektrum des Oxyhämoglobins, b) das des sauren Hämatoporphyrins (in Schwefelsäure) und c) das leere Spektrum zeigt. Diese Aufnahme ist auf einer mit Isokoll sensibilisierten Platte bei 0,03 mm Spaltweite gemacht worden.

Oben wurde erwähnt, daß sich der Violetstreifen des Blutfarbstoffs auch mit Hilfe eines Fluoreszenzschirmes nachweisen läßt. Wie nun kürzlich W. Gummelt im hiesigen Laboratorium gefunden hat, läßt sich der Violetstreifen in dem oben beschriebenen U. V.-Prismenspektrographen sehr gut direkt beobachten, wenn man an Stelle der Mattscheibe ein in einen Holzrahmen gefaßtes dünnes Blättchen aus Baryumplatincyanür hineinschiebt, das aus einem gewöhnlichen Röntgenschild durch vorsichtiges Ablösen der Papierrückwand gewonnen wurde. Man muß im verdunkelten Zimmer arbeiten und das Auge auch gegen das von der Nernstlampe ausgehende direkte Licht

<sup>1)</sup> Vgl. O. Schumm, l. c.

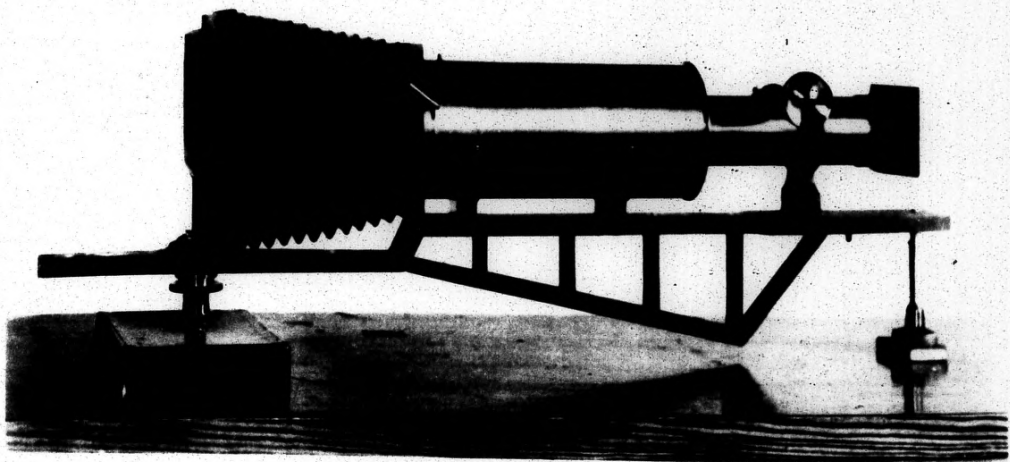


Fig. 4.

Fig. 5.

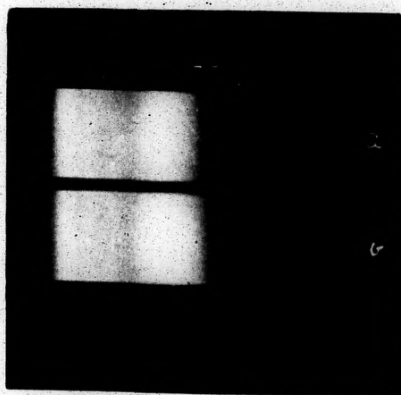
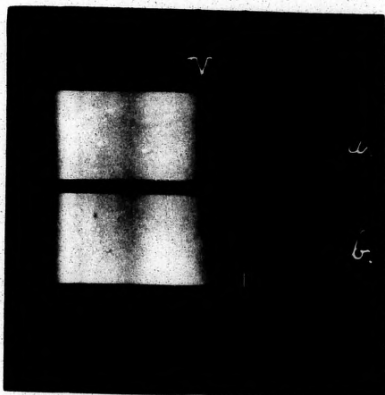
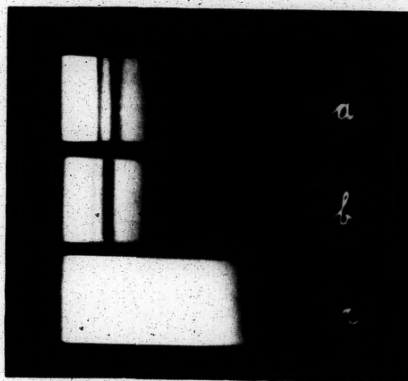
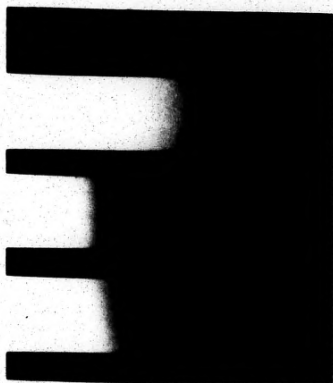


Fig. 6.

Fig. 7.



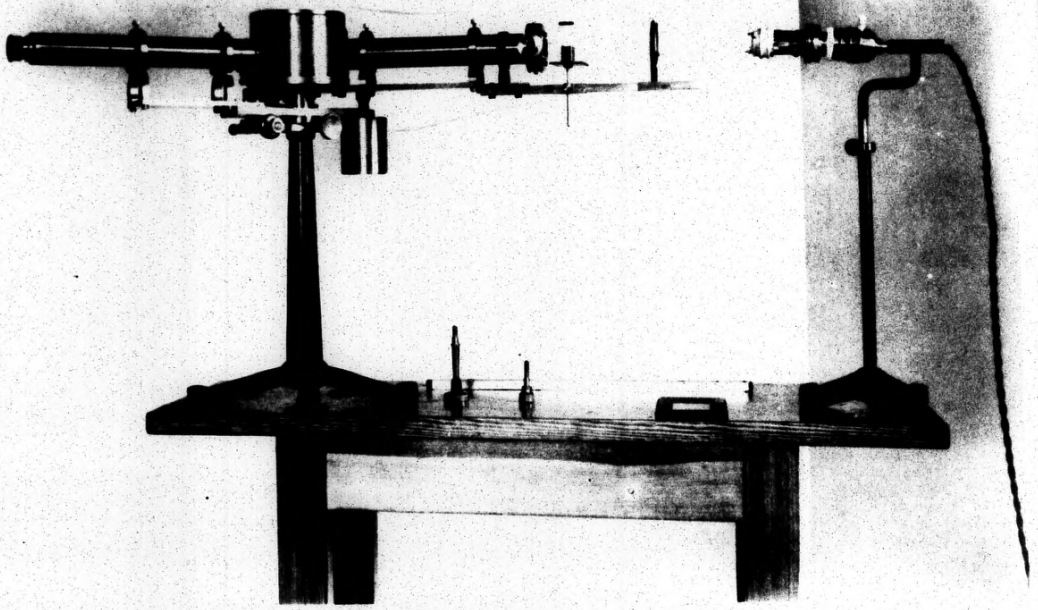
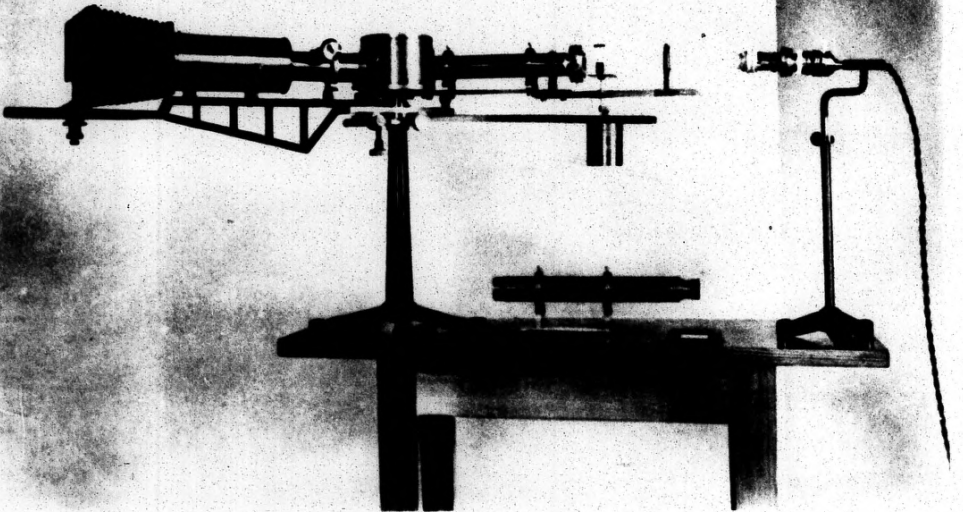


Fig. 2.









schützen. Die nicht benutzte Hälfte des Spektrums (Rot, Gelb und Grün) kann man durch Einschieben von schwarzem Papier in den Rahmen der Fluoreszenzscheibe ausschalten.

Entfernt man die Kamera und setzt das Beobachtungsfernrohr ein, in dem sich statt des Okulars ein in ein Röhrchen gefaßtes Baryumplatincyanscheibchen befindet, so kann man den Violetstreifen gut beobachten. Die Einstellung in den Brennpunkt erfolgt durch Verschieben des Plättchens. Den Augenabstand reguliert eine verschiebbare Röhre ohne Linsen.

Beobachtet man mit dem beschriebenen Spektroskop wässrige Blutlösung in 1 cm dicker Schicht, so kann man bei einer Verdünnung von 1 : 4000 den Violetstreifen noch deutlich erkennen: bei einer Verdünnung von 1 : 5000 ist er noch wahrnehmbar und verschwindet dann bei allmählich gesteigerter Verdünnung.

Für den geübten Beobachter ist diese Art des Nachweises also noch etwas schärfer als der Nachweis auf photographischem Wege. Die Ausführung des beschriebenen U. V.-Spektrographen dürfte unseren ersten optischen Werkstätten keine Schwierigkeiten bereiten.

### Literatur.

1. Müller-Pouillet's Lehrbuch der Physik und Meteorologie.
2. Winkelmann, Handbuch der Physik.
3. H. Kayser, Handbuch der Spektroskopie.
4. Gamgee, On the Absorption of the Extreme Violet and Ultraviolet Rays of the Spectrum by Haemoglobin, its Compounds and Certain of its Derivatives. Zeitschrift für Biologie, 1896, Bd. XXXIV, S. 505.
5. Lewin, Miethé und Stenger, Über die durch Photographie nachweisbaren spektralen Eigenschaften des Blutfarbstoffs und anderer Farbstoffe des tierischen Körpers. Pflügers Archiv für die gesammte Physiologie, 1907, Bd. CXVIII, S. 80.
6. Lewin und Miethé, Ein Apparat zur Demonstration der ultravioletten Absorptionslinie des Blutes. Pflügers Archiv für die gesammte Physiologie, 1908, Bd. CXXI, S. 161.
7. E. Rost, Die Photographie des Blutspektrums, Medizinische Klinik, 1909, Nr. 7.
8. O. Schumm, Klinische Spektroskopie, Jena 1909, Bei Gustav Fischer.
9. Rost, Franz und Heise, Beiträge zur Photographie der Blutspectra, Berlin 1909 bei J. Springer.