

Weitere Mittheilungen über die Eigenschaften des Blutfarbstoffs von F. Hoppe-Seyler.

1. Das Hämoglobin als Reagens auf freien Sauerstoff.

Es ist eine schon längere Zeit bekannte Erfahrung, dass Lösungen von Oxyhämoglobin durch Evacuiren mit der Luftpumpe oder durch Einleiten eines indifferenten Gases des grössten Theils vom locker gebundenen Sauerstoff beraubt werden können, ohne dass die Lösungen hierdurch die Eigenschaft erhielten, in dünner Schicht den Streifen des Hämoglobin bei der Spectraluntersuchung zu zeigen. Wenn diese Lösungen auch eine ziemlich deutliche venöse Färbung erkennen lassen, findet man spectroscopisch noch beide Oxyhämoglobinstreifen deutlich erkennbar, wenn auch der sie trennende helle Zwischenraum bereits ziemlich verdunkelt erscheint. Diese Erscheinung lässt keine andere Erklärung zu, als dass die Energie, mit welcher Oxyhämoglobininlösungen die ihren Absorptionsstreifen entsprechenden Lichtarten absorbiren, bedeutend grösser ist als die Absorptionen des Hämoglobin; hierfür sprechen auch verschiedene andere Beobachtungen, auf die ich aber jetzt nicht eingehen will.

Stroganow⁽¹⁾ überzeugte sich mittelst eines einfachen von mir construirten Apparates, dass das Blut der vena jugularis beim Erstickungstode von Hunden oder Kaninchen noch die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins deutlich erkennen lässt, und Hr. Stud. Homburger fand in einigen im hiesigen physiol. chemischen Institute angestellten Versuchen, dass auch beim Erstickungstode von Fischen der Blutfarbstoff noch die beiden Streifen des Oxyhämoglobin zeigt. Grosse Schleie, *Cyprinus Tinca*, waren

⁽¹⁾ Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 12 S. 23.

mit Wasser, dem ein wenig Blutkörperchenlösung zugefügt war, und sehr wenig Luft eingeschlossen in grosse Gläser; lange Zeit verging, ehe sie starben, als aber der Tod eingetreten war, ergab die Spectraluntersuchung des schwach blutig gefärbten Wassers noch immer die beiden Oxyhämoglobinstreifen. Die Angabe von Gréhant⁽¹⁾, dass diese Fische vor ihrem Tode den im Wasser absorbirt enthaltenen Sauerstoff vollständig verbrauchten, ist also nicht ganz richtig.

Das Hämoglobin ist, wie solche Versuche überzeugend nachweisen, ein feines Reagens, um sehr geringe Quantitäten absorbirten Sauerstoff in Flüssigkeiten oder Gasgemischen zu erkennen, aber es existirten meines Wissens keine Versuche, welche die Grenze feststellen, bis zu welcher Sauerstoffspannung verdünnte Hämoglobininlösung noch so viel Sauerstoff in lockere Verbindung aufnimmt, dass die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobin erkennbar werden. Da mir nun die Anwendbarkeit dieses früher bereits von mir viel benutzten Reagens eine sehr bedeutende zu sein scheint, habe ich eine Reihe von Bestimmungen ausgeführt, um diese Grenze zu ermitteln.

Ein gewöhnliches graduirtes und durch Quecksilberwägungen calibrirtes in der Spitze durch einen Glashahn geschlossenes Quecksilbergasometer nach Bunsen⁽²⁾ wurde mit Quecksilber gefüllt, unten durch einen Kork geschlossen, in dessen Bohrung ein aufrechtes beiderseits offenes Glasrohr stand. Dies Glasrohr wurde theilweise mit Quecksilber gefüllt, der Hahn oben am Gasometer geöffnet und bei Atmosphärendruck Luft bis zu einer bestimmten Marke einströmen lassen, dann der Hahn geschlossen und nach Einsetzen des Gasometers in eine Quecksilberwanne der unten verschliessende Kork nebst Glasrohr unter Quecksilber entfernt. Reines Wasserstoffgas wurde dann in einer Flasche so lange in eine passend stark verdünnte Lösung von Rinds-

(¹) Compt. rend. T. LXXIV, p. 621. 1872.

(²) R. Bunsen. Gasometrische Methoden. Braunschweig, 1857.

blutkörperchen eingeleitet, bis die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobin verschwunden waren, das Einleiten von Wasserstoff dann noch eine halbe Stunde fortgesetzt, so dass jede Spur von atm. Luft ausgetrieben war. Die Röhrenleitungen waren verzweigt und mit 4 Hahnen in der Weise versehen, dass der Wasserstoffstrom an der Blutfarbstofflösung vorbei durch langen Kautschukschlauch in die freie Luft nach abwärts entweichen konnte, oder durch die Blutfarbstofflösung zu diesem Schlauche gelangte, oder neben der Blutfarbstofflösung zum Quecksilbergasometer geleitet wurde, oder endlich auf die Blutfarbstofflösung drückend diese in das Quecksilbergasometer eintrieb.

Nach völliger Entfernung des Sauerstoffs aus der Blutfarbstofflösung wurde zunächst das Quecksilbergasometer bis zur gewünschten Höhe mit Wasserstoffgas gefüllt, dann eine kleine Portion der Hämoglobinlösung in das Gasometer gepresst, letzteres mit Kork und offenen aufrechten Glasrohr geschlossen, aus der Quecksilberwanne gehoben, durch Zustandgiessen von Quecksilber in das offene Glasrohr das Niveau des Quecksilbers im Gasometer mit jenem ausgeglichen, und nun durch vorsichtiges Schütteln die Hämoglobinlösung mit der schwach sauerstoffhaltigen Gasmischung im Gasometer in ausgebreiteter Fläche in Berührung gebracht. Die Zertheilung des Quecksilbers in Kügelchen wurde bei dem Schütteln möglichst vermieden. Mit dem Spectroscop wurde dann von Zeit zu Zeit die Hämoglobinlösung untersucht, ob die beiden Streifen des Oxyhämoglobin aufgetreten waren. Es wurden folgende Resultate erhalten:

Versuch Nro.	I.	II.	III.	IV.
Vol. d. Blutkörperchenlösung	31,0	36,1	30,4	36,8
Gasvolumen	134,16	224,73	146,60	213,36
Sauerstoffvolumen darin . .	0,21	0,63	0,63	0,4075
Sauerstoff Vol. p. Ct. . . .	0,1565	0,28	0,43	0,1910
Temperatur	17°,0	17°,0	15°,5	15°,5
Druck	0m,760	0m,7841	0m,7439	0m,7665
Sauerstoffspannung	0m,00119	0m,00219	0m,0043	0m,001464
Sichtbarkeit der Oxyhämoglobinstreifen.	undentlich.	deutlich.	sehr deutlich	deutlich

Bei sehr schwacher Sauerstoffspannung im Gasgemische ist das Schütteln der verdünnten Hämoglobinlösung mit dem Gase längere Zeit fortzusetzen, da, wie es sich auch in den Versuchen von J. Worm Müller⁽¹⁾ über die Spannung des Sauerstoffs im Blute sehr bestimmt zu erkennen gegeben hat, diese Lösung eine bedeutende Trägheit sowohl in der Aufnahme als in der Abgabe des locker gebundenen Sauerstoff zeigt. Im Versuche III oben wurden schon nach kurzem Schütteln die beiden Absorptionstreifen des Oxyhämoglobin mit dem Spectroscop deutlich wahrgenommen, in den Versuchen II und IV erst nach lange fortgesetztem Schütteln. Die Blutkörperchenlösung war so stark verdünnt, dass die zur Oxyhämoglobinbildung nothwendige Sauerstoffaufnahme die Sauerstoffspannung im Gasraume nicht wesentlich ändern konnte.

Durch diese Versuche ist erwiesen, dass es gelingt, mit der verdünnten Hämoglobinlösung noch Sauerstoff in Gasgemischen nachzuweisen, wenn die Sauerstoffspannung bei gewöhnlicher Temperatur nur 1,5 mm., Quecksilberdruck entspricht, oder wenn bei gewöhnlichem Atmosphärendruck das Gemisch 0,191 Vol. % Sauerstoff enthält. Da nun bei zweckmässiger Einrichtung der Apparate zu dieser Untersuchung eine Quantität von 1 CC. Gasmischung und 0,5 CC. oder noch weniger verdünnte Blutfarbstofflösung hinreichen werden, kann man sagen, dass sich noch 0,002 CC. gasförmiger Sauerstoff mittelst dieser Spectralprobe sicher nachweisen lassen. Würde der Druck in dem Apparate um 1 Atmosphäre gesteigert, wie sich dies leicht ausführen lässt, so könnte noch 1 Kubikmillimeter Sauerstoffgas erkannt werden; dasselbe liesse sich in engerem Glasrohre wohl auch leicht bei gewöhnlichem Luftdruck erreichen.

Es ist einleuchtend, dass dies dem thierischen Organismus entnommene feine Reagens manche interessante Anwendung finden kann zur Aufsuchung geringer Sauerstoff-

(¹) Ber. der Gesellsch. der Wissensch. zu Leipzig, math. phys. Classe Bd. XXII. S. 351. 1871.

mengen, sowohl in Gasen als auch in neutralen oder sehr schwach alkalischen Flüssigkeiten. Da das Oxyhämoglobin sich in manchen Hinsichten wie eine schwache Säure verhält, wäre es möglich, dass durch die alkalische Reaction von Flüssigkeiten die Genauigkeit des Nachweises auch etwas beeinflusst würde; hierüber habe ich Untersuchungen nicht angestellt.

Die Vorbereitung der Hämoglobinlösung, wie ich sie für obige Versuche benutzt habe, ist nicht sehr zeitraubend, erfordert aber für die Darstellung und Einpressung in das Gasometer einen ziemlich complicirten Apparat; viel einfacher ist es, die Hämoglobinlösung durch Fäulniss von locker gebundenem Sauerstoff zu befreien. Ehe jedoch die einfache Benutzung dieser Methode für den Nachweis von Sauerstoff in Flüssigkeiten geschildert wird, ist es zweckmässig, die Einwirkung der Fäulniss auf den Blutfarbstoff selbst näher in's Auge zu fassen.

2. Ueber die Fähigkeit des Hämoglobins der Fäulniss sowie der Einwirkung des Pankreasferments zu widerstehen.

Schliesst man Blut oder wässrige Blutfarbstofflösung mit oder auch ohne faulende Substanzen in Glasröhren ein, und lässt die zugeschmolzenen Röhren bei Zimmertemperatur liegen, so nimmt die Lösung in wenigen Stunden oder Tagen venöse Farbe an, die beim Umkehren der Röhren an der Wandung herablaufende Flüssigkeit zeigt bei der Untersuchung mit dem Spectroscop den bekannten Absorptionsstreifen des Hämoglobin und nun bleiben die Spectralerscheinungen, wie ich mich überzeugt habe, viele Jahre wahrscheinlich für immer ungeändert. Lösung mehrmals unkrystallisirten Oxyhämoglobins vom Hunde verhält sich ebenso, und wenn man dann nach Jahresfrist ein solches Rohr öffnet, so zeigt sich im Rohre kein höherer Gasdruck.

Von einer solchen Lösung gereinigten Oxyhämoglobins, welche Mitte Januar 1876 angefertigt und zu mehreren Blutfarbstoffbestimmungen im Blute verschiedener Thiere theil-

weise verwendet war, wurden Portionen in eine Anzahl Glasröhren eingeschmolzen. Eine dieser Röhren wurde an einem heissen Julitage vorigen Jahres, andere am 18. Januar 1877 geöffnet.

Aus dem Inhalte eines Rohres wurde durch Abkühlung und Zusatz von $\frac{1}{4}$ Vol. Alkohol eine reine Krystallisation von Oxyhämoglobin gewonnen, welche zwischen kaltem Papier abgepresst, in Wasser gelöst und in dieser Lösung als Normallösung verwendet wurde. Es waren dann im letzten Januar aus frischem Hundeblood neue Portionen von Oxyhämoglobinkrystallen dargestellt, in bekannter Weise umkrystallisirt und zu Normallösungen von verschiedener Concentration gelöst.

Gemessene Portionen aller dieser Lösungen wurden dann mit Wasser (in den zur Blutfarbstoffbestimmung von mir empfohlenen Gefässen mit planparallelen Wandungen und 1. Cm. Abstand der letztern von einander) soweit verdünnt, bis bei hinreichender Verdünnung aller zur genauen Vergleichung kein Unterschied in ihrer Färbung im weissen durchfallenden Lichte erkannt werden konnte. Von allen diesen Oxyhämoglobinlösungen wurde ausserdem der Gehalt an Farbstoff durch Abdampfen, Trocknen, Veraschen, Wägung des trocknen Rückstandes und des Eisenoxyds bestimmt. Es enthielten bei völlig gleicher Färbung:

- | | | |
|--|----------------------------|---|
| I. Die Normallösung dargestellt aus Krystallen, die aus der Flüssigkeit in einem Rohre vom Januar 1876 dargestellt war, im Januar 1877 . . . | 0,1185 p. C. Oxyhämoglobin | |
| II. Eine Lösung von Oxyhämoglobin aus frischem Hundeblood im Januar 1877 dargestellt . . . | 0,1264 | „ |
| III. Eine andere ebensolche Oxyhämoglobinlösung . . . | 0,1244 | „ |
| IV. Der Gehalt eines im Januar 1876 zugeschmolzenen, am 20. Januar 1877 geöffneten Rohrs bis zur gleichen Färbung mit Wasser verdünnt . . . | 0,1213 | „ |

Der Gehalt der im Jahre 1876 in Röhren eingeschmolzenen Lösung hatte damals 3,884 Gramm Oxyhämoglobin in 100 CC. Lösung betragen. Am 19. Januar 1877 wurde der Inhalt eines dieser Röhren untersucht, und darin 3,823 Gramm Oxyhämoglobin für 100 CC. gefunden. Die Differenz von 0,061 Procent würde dem Gehalte von 1,57 CC. der vorjährigen Lösung entsprechen, sie kann also nicht innerhalb der Grenzen der Fehler der Bestimmung liegen, aber es fanden sich keine Spuren von Zersetzungsprodukten des Blutfarbstoffs und ist deshalb anzunehmen, dass durch die Fäulniss das Hämoglobin von Verunreinigungen befreit war, und daher die Abnahme des Gewichtes rührte.

Ich habe in früheren Arbeiten das Verhalten der Eiweissstoffe in Lösungen, die sich in zugeschmolzenen Röhren befinden, beschrieben, und ihre Zersetzung unter Bildung von CO_2 , NH_3 , Leucin und Tyrosin nachgewiesen. Das Hämoglobin verhält sich durchaus nicht wie ein Eiweisskörper, wie es von diesen auch in andern Beziehungen durchaus abweicht. Besonders merkwürdig ist es aber, dass das Hämoglobin, ein Körper der so ausserordentlich leicht durch Säuren, Alkalien, Erhöhung der Temperatur bei Gegenwart von Wasser gespalten wird, von der Fäulniss gar nicht angegriffen wird, während er doch die Fäulniss anderer Stoffe gar nicht hindert.

Es ist kürzlich angegeben⁽¹⁾, dass das Pankreasferment, welches die Eiweissstoffe verdaut, auch das Hämoglobin in Hämatin und andere Stoffe zerlege. Diese unrichtige Angabe beruht auf einer Verwechselung des Oxyhämoglobins mit dem von diesem Körper wohl zu unterscheidenden Hämoglobin, von dem ich bereits vor mehreren Jahren nachgewiesen habe, dass Hämatin durch seine Spaltung gar nicht direct entstehen kann, sondern nur Hämochromogen, welches in Berührung mit freiem Sauerstoff dann schnell in Hämatin verwandelt wird.

Zur Einwirkung von Pankreasferment auf Eiweissstoffe

⁽¹⁾ W. Kühne, Verhandl. des naturw. med. Vereins in Heidelberg. Neue Folge Bd. 1. Heft 3, S. 198. 1876.

ist freier Sauerstoff nicht erforderlich, wie Hüfner bereits nachgewiesen hat. Hämoglobinlösung kann mit Pankreasferment reichlich versetzt, Monate langstehn, ohne dass die geringste Veränderung eintritt. Um sich von der Fähigkeit des Hämoglobin diesem Fermente zu widerstehn, leicht und sicher zu überzeugen, würde man verschiedene Apparatanordnungen benutzen können; eine unten zur Darstellung des Hämochromogens angegebene einfache Combination zweier in einandergesetzten Röhren ist hierzu gut verwendbar, aber am schnellsten ausführbar und besonders überzeugend gelingt der Versuch, wenn man den früher von mir für die Bildung des Hämochromogen beschriebenen Apparat⁽¹⁾ benutzt, in die eine Abtheilung des Kugelapparats den Wasserauszug des mit Alkohol behandelten Pankreas, in die andere Fibrin und Blutfarbstofflösung bringt. Leitet man Wasserstoffgas so lange durch den Apparat, dass jede Spur von Sauerstoffgas ausgetrieben ist, schmilzt dann die Enden des Apparates zu und mischt den Inhalt beider Abtheilungen, so erfolgt in kurzer Zeit die Lösung des Fibrin, aber das Hämoglobin bleibt durchaus ungeändert, mag man auch die Einwirkung noch so lange fort dauern lassen. Die Uebereinstimmung in der Einwirkungsweise des Pankreasferment mit der der Bacterienfermente zeigt sich somit auch hinsichtlich des Hämoglobin. Es ist neuerdings gegen die von mir aufgestellte Parallele, hervorgehoben⁽²⁾, dass die Bacterien nach Behandlung mit Alkohol kein in Wasser lösliches Pankreasferment lieferten und dass das Indol nicht durch dieses Ferment, sondern allein durch die Fäulniss gebildet werde. Von Koukol-Yasnopolski wurde Bildung von Indol durch Einwirkung von Wasser auf Eiweissstoffe bei 180° beobachtet, ich erhielt Indol bei Einwirkung von Fäulnisferment unter Aether auf Blutfibrin, aber in beiden Fällen ist die Menge des Indols gering, und es ist mir nicht bekannt, wie lange die Wirkung des Pankreasferments bei Abwesen-

(¹) Medic. chem. Untersuchungen. Tübingen, Heft 4, S. 541. 1871.

(²) W. Kühne, a. a. O.

heit von Bacterien bezüglich der Indolbildung, die stets langsam erfolgt, geprüft ist. Jedenfalls steht so viel fest, dass die Einwirkung des Pankreasferments, so weit als sie constatirt ist, in keiner Weise von der der Bacterien abweicht; dass aber die Bacterien ausser dieser Fermentwirkung auch noch andere fermentative Einwirkungen zeigen, hat Niemand bestritten. Ob das eine oder andere Ferment der Bacterien in Wasser gelöst wird oder nicht, ist ohne alle Bedeutung.

Bringt man eine wässrige Lösung von rothen Blutkörperchen in ein offenes Cylinderglas, so erkennt man, wenn die Flüssigkeit ein paar Tage gestanden hat, dass die Färbung eine venöse geworden ist, und das Spectroscop lässt, wenn ein weisses Stück Papier unter das Glas gelegt ist, unten bald den einen Streifen des Hämoglobin erkennen; kurze Zeit darauf ist in der ganzen Flüssigkeit nur Hämoglobin zu finden, ausgenommen die wenige Millimeter hohe Schicht, welche an der Oberfläche unmittelbar mit der atmosphärischen Luft in Berührung steht. Offenbar wird hier durch den Fäulnissprocess fortdauernd Sauerstoff verzehrt, und aus der Atmosphäre dringt von Neuem Sauerstoff ein, aber der Process der Oxydation ist hinreichend geschwind, dass das weitere Eindringen von Sauerstoff in die tieferen Schichten der Flüssigkeit verhindert wird. Da selbst sehr verdünnte Lösungen dies Verhalten erkennen lassen, ist nicht zu zweifeln, dass in den an der Luft stehenden Flüssigkeiten, in denen Fäulnissprocesse verlaufen, wenn sie nicht umgeschüttelt werden, der grösste Theil bei Abwesenheit von Sauerstoff fault, trotzdem dass die atmosphärische Luft zur Flüssigkeit freien Zutritt hat. Durch Abkühlung der Blutkörperchenlösung wird der Fäulnissprocess sehr verlangsamt und die Oxyhämoglobin enthaltende Flüssigkeitsschicht reicht tiefer hinab.

Die Unveränderlichkeit der Hämoglobinslösungen in zugeschmolzenen Glasröhren hat nicht geringen Werth für die Ausführung von Bestimmungen des Farbstoffgehaltes in Blutproben, mögen diese Bestimmungen nach der einen oder

andern Methode ausgeführt werden. Man ist jetzt im Stande im Winter und bei Lufttemperaturen unter 0° Oxyhämoglobinkrystalle aus Hunde- oder Pferdeblut etc. darzustellen, mehrmals nach dem von mir beschriebenen Verfahren umzukrystallisiren (wenn die Lufttemperatur nicht ein paar Tage unter 0° bleibt, sind reine Krystalle von Oxyhämoglobin gar nicht zu erlangen), aus den abgepressten Krystallen Normallösungen anzufertigen, sie in Glasröhren unter der Vorsicht einzuschmelzen, dass nur ein kleiner Luftraum übrig bleibt, und nun ohne besondere Vorsichtsmassregeln aufzubewahren, bis man sie vielleicht in heissen Sommertagen zur Bestimmung des Oxyhämoglobingehaltes in Blutproben verwenden will. Weder hohe Sommer- oder Stubenwärme noch intensives Sonnenlicht verändern den Blutfarbstoff, wenn einmal der locker gebundene Sauerstoff, was bald geschehen, verzehrt ist. Bei der Ausführung der Blutfarbstoffbestimmungen müssen die Normallösungen passend stark mit Wasser verdünnt werden und man hat dabei durchaus nicht Sorge zu tragen, dass das Hämoglobin in Oxyhämoglobin umgewandelt werde, da das Hin- und Herschütten der Lösungen und der Zusatz von lufthaltigem destillirten Wasser vollauf genög Sauerstoff dem Blutfarbstoff zuführt. Die Bedenken, welche von der einen und andern Seite in dieser Beziehung geäussert sind, müssen denen, welche die Sache praktisch kennen gelernt haben, ganz ungegründet und der Versuch, durch Einleiten von Kohlenoxyd grössere Gleichmässigkeit und Unveränderlichkeit herbeizuführen, mindestens überflüssig erscheinen.

Von grösster Wichtigkeit für alle genauen Farbevergleichen mit oder ohne den meiner Ansicht nach hier nutzlosen Spectralapparat ist die völlig gleiche Klarheit und Durchsichtigkeit der Lösungen, da die Trübungen in unberechenbarer Weise Licht absorbiren.

Die Fähigkeit des Hämoglobin, der Fäulniss zu widerstehn, muss zu der Vermuthung führen, dass im Hämoglobin die Verbindung des Hämochromogens mit dem Albuminmolecul in der Weise hergestellt ist, dass der Angriffspunkt, welchen

die Albuminstoffe der Fäulniss darbieten, durch die Anfügung des Hämochromogen verlegt ist, während im Oxyhämoglobin durch das angefügte Sauerstoffmolecul die Verbindung gelockert wird.

3. Unveränderlichkeit des Kohlenoxyd-Hämoglobin bei Einwirkung von Fäulniss oder Pankreasferment; Werth dieses Verhaltens für den Nachweis der Kohlenoxydvergiftung.

Dass das Kohlenoxydhämoglobin durch die Fäulniss bei Abwesenheit von Sauerstoff nicht verändert wird, war mir durch gelegentliche Beobachtungen seit lange bekannt⁽¹⁾, doch habe ich erst seit einem Jahre eingehendere Versuche in dieser Richtung angestellt. Seit 1857, zu welcher Zeit ich meine ersten Versuche über die Einwirkung des CO auf den Blutfarbstoff ausführte, habe ich eine Portion mit CO gesättigtes defibrinirtes Blut in einem nicht ganz damit gefüllten Fläschchen aufbewahrt und dies Blut zeigt noch jetzt, also nach 20 Jahren, vollständig seine Absorptionserscheinungen. Das Fläschchen ist nur gut verkorkt und versiegelt.

Am 25. December 1876 wurde hier in Strassburg eine Frau durch CO, welches sich bei mangelhafter Heizung in ihrer Stube entwickelt hatte, tödtlich vergiftet; das bei der Section entnommene Blut wurde theils in einen Kolben mit mässig grossem Luftraume, theils in ein Glasrohr eingeschmolzen. Dieser zweiten Portion war eine Lösung gut wirkenden Pankreasferments beigelegt. Noch jetzt nach 4 bis 5 Monaten zeigen beide Portionen unverändert die Absorptionserscheinungen des Kohlenoxydhämoglobins, obwohl sie im warmen Zimmer gestanden haben. An einen günstigen Zufall darf man hierbei nicht denken, denn Blutportionen, welche ganz oder theilweise mit Kohlenoxyd gesättigt eingeschmolzen waren, verhielten sich vollständig ebenso.

Es sind früher von mir zwei Methoden der Prüfung des Blutes auf Kohlenoxydhämoglobin angegeben, die allgemein angewendet werden, und von denen die eine, die

(¹) Arch. f. pathol. Anat. Bd. XI. S. 288. 1857.

Behandlung mit alkalischen reducirenden Stoffen z. B. Schwefelammonium auch bei einiger Vorsicht völlig zuverlässige Resultate gibt. Ich muss aber jetzt das Verhalten des Kohlenoxydhämoglobin gegen die Fäulniss bei Abwesenheit von Sauerstoff noch für zuverlässiger halten und auf den gewiss nicht gering anzuschlagenden Vorthail aufmerksam machen, dass man in einer der Leiche entnommenen Portion Blut, die bald in ein Glasrohr eingeschmolzen ist, noch nach Jahren die Absorptionserscheinungen des Kohlenoxydhämoglobin unzweifelhaft erhalten findet, dass man in gerichtlichen Fällen ferner im Stande ist, den Beweis der CO-Vergiftung eigentlich ohne Anwendung eines Reagens vorzuführen und unverändert zu erhalten. Es ist hierbei wohl zu beachten, dass es nie vorkommt, dass sich das in den Spectralerscheinungen so ähnliche Oxyhämoglobin im zugeschmolzenen Glasrohr wochenlang unverändert erhält, wenn die Temperatur 15° und darüber beträgt und nicht etwas Aether zum Blute hinzugefügt ist oder eine andere, die Fäulniss hindernde, das Blut nicht zersetzende Substanz. Es ist auch selbstverständlich, dass bei der Vorbereitung des Glasrohrs zum Einschmelzen des Leichenblutes nicht durch Staub u. dergl. im Innern des Rohrs CO gebildet und mit dem zu prüfenden Blute zusammen gebracht werden darf. Das unten zugeschmolzene und oben in eine mässig enge Röhre ausgezogene Rohr wird erst durch einen Luftstrom gereinigt, dann das Blut durch enges Trichterrohr eingebracht, die ausgezogene verengte Partie des Rohrs mit einigen Tropfen Wasser sorgfältig gereinigt, dann in der Flamme durch Ausziehen geschlossen. Eine besondere Geschicklichkeit ist zu allen diesen Operationen durchaus nicht erforderlich.

Die Absorptionsstreifen des Kohlenoxydhämoglobin sind auch bei Gegenwart grosser Quantitäten Hämoglobin noch erkennbar, es kann daher die CO-Einwirkung auf den Blutfarbstoff noch nachgewiesen werden, wenn auch das Blut bei Weitem noch nicht mit CO gesättigt ist. Da ferner das CO fester am Blutfarbstoff haftet als der Sauerstoff, wird

man mit Hämoglobinlösung auch im Stande sein, dies Gas bei noch viel geringerer Tension nachzuweisen, als sich dies in den oben beschriebenen Versuchen bezüglich des Sauerstoffs gezeigt hat. Versuche zur Bestimmung der Grenze habe ich für diesen Nachweis nicht unternommen, weil diese Frage vorläufig keine praktische Bedeutung hat; jedenfalls ist die geschilderte Methode des Nachweises vom CO eine der feinsten, die wir überhaupt von chemischen Substanzen besitzen. Nach Beendigung dieser Arbeiten finde ich in dem Berichte der deutschen chem. Gesellsch. X, Heft 8, S. 792 eine sonst nur Bekanntes enthaltende Mittheilung von H. Vogel über den Nachweis des CO in der Luft durch Blutfarbstoff, die sich auf die von mir früher angegebenen Reactionen stützt und dabei hervorhebt, dass 0,4 Vol. Procent Kohlenoxydgas damit in der atm. Luft erkannt werde. Es könnte diese Angabe vielleicht in der Weise missverstanden werden, als sei dies die untere Grenztension des Kohlenoxyd, bis zu welcher dies Gas in der Luft erkennbar wäre durch die Hämoglobinlösung. Das eben über die untere Grenztension des Sauerstoffs bezüglich des Nachweises durch Blutfarbstofflösung Gesagte genügt, die Ueberzeugung zu geben, dass diese Grenze in Wirklichkeit viel tiefer liegt, mindestens viel tiefer als die erkennbare schwächste Tension des Sauerstoffs, also unter 1,5 mm. CO Druck.

4. Ueber die Einwirkung der Fäulniss und des Pankreasferments auf Oxyhämoglobin.

Vor längerer Zeit habe ich die Einwirkung von Ozon auf den Blutfarbstoff beschrieben, bei der Fäulniss von Eiweissstoffen u. s. w. wird Sauerstoff, welcher hinzutritt, befähigt Ozonwirkungen auszuüben; es steht hiermit in Uebereinstimmung, dass an der Luft faulende blutfarbstoffhaltige Flüssigkeiten in derselben Weise verändert werden, wie beim Einleiten von Ozon. Es tritt unter solchen Verhältnissen, wie bekannt, ein bei hinreichend dicker Schicht der Flüssigkeit sehr deutlich erkennbarer Absorptionsstreif im Roth im Spectrum des durchfallenden Lichtes auf und es

ist für den Körper, der diese Absorption bewirkt, die von mir vorgeschlagene Bezeichnung Methämoglobin allgemein acceptirt, obwohl ich es noch zweifelhaft gelassen habe, ob nicht die Bildung von Hämatin die Ursache dieser Absorption im Roth sei. Fügt man ein wenig kohlen-saures Ammoniak zu Lösungen, die diesen Absorptionsstreifen zeigen, so verschwindet er, tritt aber sofort wieder auf nach Zusatz von ein wenig Essigsäure. Faulende Blutlösungen, welche diesen Streifen zeigen, verlieren ihn bald bei Ausschluss von Sauerstoff, er tritt aber wieder auf, so wie eine geringe Quantität freien Sauerstoffs hinzukommt. Es ist hier und da die Vermuthung ausgesprochen, dass das Methämoglobin ein Hyperoxyd sei, aber ohne irgend haltbare Begründung dieser Ansicht. Wenn es überhaupt existirt, wird es als eine Verbindung von Hämatin mit einem Eiweissstoff betrachtet werden müssen; seine Untersuchung ist dadurch sehr erschwert, dass es kaum jemals gelingt es frei von unzersetzten Oxyhämoglobinstreifen im Spectrum zwischen D und E zu erhalten. Die beiden bekannten Oxyhämoglobinstreifen im Spectrum zwischen D und E zeigten alle Methämoglobinlösungen, welche ich gesehen habe, mochten sie pathologische Bildungen des menschlichen Körpers entnommen oder künstlich dargestellt sein, aber es ist fälschlich angenommen, dass sie durch das Methämoglobin bewirkt würden; dass dies nicht der Fall ist, beweist die Vergleichung der Intensität der Absorptionen im Roth und im Gelbgrün; je mehr Methämoglobin relativ in der Flüssigkeit ist, desto stärker ist der Absorptionsstreif im Roth und desto schwächer sind die beiden Oxyhämoglobinstreifen.

Leitet man Arsenwasserstoff oder Schwefelwasserstoff durch Hämoglobinlösung, so wird dieselbe ebensowenig wie durch die Fäulniss zersetzt. Leitet man dagegen die genannten Gase durch Oxyhämoglobinlösungen, so tritt ein Absorptionsstreifen im Roth bei der Spectraluntersuchung hervor, welcher mit dem des Methämoglobin unter bestimmten Umständen gleiche Stellung zu haben scheint. Wenn die durch Einwirkung von Ozon, Fäulniss, AsH_3 und SH_2 auf Oxyhämoglobin gebildeten Stoffe vielleicht auch nicht iden-

tisch sind, verhalten sie sich doch in mancher Hinsicht sehr ähnlich; würden sie sich als identisch ergeben, so könnte man sie wohl nicht als Hyperoxyd ansehen. Ich habe weitere Untersuchungen in dieser Richtung begonnen.

5. Ueber den Nachweis von absorbirten Sauerstoff in den Secreten mittelst Hämoglobin.

Aus dem, was im Eingang dieser Mittheilungen über die Grenze der Tension des Sauerstoffs gesagt ist, bis zu welcher die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins sichtbar sind, ergibt sich zugleich die Anwendbarkeit der Hämoglobinlösung zur Erkennung selbst geringer Quantität von in Flüssigkeit absorbirten Sauerstoff. Ein Apparat, welcher die zu untersuchende Flüssigkeit mit der Hämoglobinlösung ohne Luftzutritt in Berührung bringt, ist besonders für die Fälle leicht zu construiren, in denen die zu prüfende Flüssigkeit fließend und in nicht zu geringer Quantität zu erlangen ist. Zur Untersuchung der Secrete der Parotis, Submaxillaris, der Leber und der Niere bediente ich mich der folgenden einfachen Construction. Ein Zweiwegehahn, wie er jetzt wohl allgemein zur Einführung von Blut aus der Ader in Quecksilberpumpen u. s. w. benutzt wird, und ein Hahn mit einfacher Bohrung wurden in der Weise mit je einem Ansatzrohr an einander geschmolzen, dass zwischen beiden Hahnen ein gerades Glasrohr von ungefähr 20 Cm. Länge entsteht, in dem eine Flüssigkeit allseitig abgeschlossen werden kann. Das freibleibende Ansatzrohr des Döppelwegehahns wird in der Weise ausgezogen, dass ein enger Kautschukschlauch darauf geschoben und befestigt werden kann, um damit eine Vereinigung mit der in den Ausführungsgang der Drüse eingebundenen Canüle herzustellen, über das Ende des freibleibenden Ansatzrohrs vom andern Hahn wird ein mindestens 20 Cm. langes Stück Kautschukschlauch befestigt und in die andere Oeffnung desselben ein kurzes in eine feine offene Spitze ausgezogenes Stück Glasrohr eingefügt. Oeffnet man nun beide Hahnen, so kann durch Saugen am Ende nach der Canüle hin die ganze Röhrenleitung mit

einer passend verdünnten Oxyhämoglobinlösung gefüllt werden. Ist dies geschehen, so werden die Hahnen oder wenigstens der Zweigegehahn geschlossen gegen das Röhrenstück zwischen beiden Hahnen und der Apparat bei Zimmertemperatur liegen gelassen, bis die spectroscopische Untersuchung der Blutfarbstofflösung im Röhrenstück zwischen beiden Hahnen nur noch den einen Streifen des Hämoglobin zeigt. Fügt man jetzt den Apparat mit engem Kautschukschlauch an die in den Ausführungsgang einer Drüse eingebundene Canüle und lässt längere Zeit das Secret durch das Anfangsröhrenstück des Apparats und die zweite Bohrung des Zweigegehahns abfließen, so wird die Luft und lufthaltige erste Secretportion ausgetrieben und die Röhren völlig davon ausgespült. Oeffnet man dann beide Hahnen nach dem mittleren Röhrenstück, so tritt das Secret jetzt mit der Hämoglobinlösung in Berührung und sofort stellt sich die Oxyhämoglobinbildung in der Berührungsstelle ein, wenn die Spannung des an der Flüssigkeit absorbirten Sauerstoffs über der oben besprochenen Grenze liegt. Um die Untersuchung auf das Oxyhämoglobin bequem auszuführen, ist es am Besten ein Stück weisses Papier unter den Apparat zu legen und dicht neben dem Zweigegehahn die Röhre mit dem Taschenspectroscop zu prüfen. Das reflectirte weisse Licht des Papiers ist zur Untersuchung genügend; der Spalt des Spectroscops ist senkrecht zur Längsaxe des Rohrs zu halten. Wenn das Secret weiter und weiter im mittlern Röhrenstück voranrückt, erhält man bald ein ausgedehnte Strecke, in welcher überall die Untersuchung auf die Oxyhämoglobinstreifen ausgeführt werden kann, und schliesst man dann beide Hahnen und hält den vom Thiere abgenommenen Apparat gegen das Licht, so kann man auch im directen Tages- oder Sonnenlicht untersuchen.

Die Resultate, welche ich bei der Untersuchung der oben genannten Secrete erhalten habe, ergeben sich so unzweifelhaft, dass ich weitere Wiederholungen für ganz überflüssig gehalten habe.

Die Secrete der Parotis und der Submaxillaris

erwiesen sich sauerstoffhaltig, es kann also kein Zweifel sein, dass bei der Speichelsecretion Sauerstoff den secernirenden Zellen in solchem Ueberschusse zukommt, dass freier Sauerstoff noch in das Secret übergeht. Bezüglich der Submaxillaris ergibt diese Beobachtung eine Bestätigung des auf ganz andern Wege von Pflüger⁽¹⁾ erhaltenen Resultats; von dem Parotidensecrete sind mir derartige Untersuchungen nicht bekannt. Die Untersuchung der Galle geschah unter Anfügung des Apparats an den ductus choledochus, die Baueingeweide waren gut reponirt und die Canüle lag völlig bedeckt zwischen ihnen im mit Nähten geschlossenen Bauche des Thiers. Es blieb beim Einfluss der Galle in das mittlere Röhrenstück des Apparats die Hämoglobininlösung ganz unverändert, keine Spur einer Zerteilung des Absorptionsstreifen war zu erkennen, die Galle ist also frei von absorbirten Sauerstoff. Dasselbe Resultat hat Pflüger durch Evacuiren von Galle erhalten, aber die stagnirende Blasengalle konnte den absorbirten Sauerstoff verbraucht haben; es ist bekannt, dass die Galle in der Blase allmählig grüner wird, offenbar unter Oxydation des Bilirubin. In meinem Versuche an einem grossen Hunde, der sich mitten in der Dünndarmverdauung befand, war die Secretion stark genug, dass das Secret nicht lange Zeit zu dieser Umwandlung hatte, ehe es mit der Hämoglobininlösung in Berührung kam. Zur Untersuchung des Nierensecrets wurde der Apparat an den einen Ureter angefügt, der Hund war wiederum in guter Verdauung und secernirte nicht wenig Harn, das Ureterstück war gut von Bauchorganen bedeckt. Auch in dem Harne fand sich keine Spur von Sauerstoff. Obwohl nun die angewendete Methode keinen Aufschluss über die Spuren von Sauerstoff unter 1,5 mm. Quecksilber Tension liefert, ist einerseits ersichtlich, dass die etwa vorhandenen Spuren wirklich verschwindend kleine nur sein können, andererseits entspricht die Abwesenheit von Sauerstoff in der Galle der Bildung des bei Anwesenheit von Sauerstoff leicht oxydablen Bilirubin

(¹) Archiv für die ges. Physiol. 1, S. 686 und II, S. 156.

und im Harn der Bildung von Hydrobilirubin. Ich habe früher schon darauf aufmerksam gemacht, dass beide Stoffe durch Reductionsprozesse allein gebildet werden können. Die Leber erhält für ihre Secretion fast allein venöses Blut, bei niederen Wirbelthieren ist dies auch mit der Niere der Fall, die Aehnlichkeit der Secretion beider ist anerkannt, viel besprochen, und manche Function von beiden getheilt, andere bald der einen, bald der andern Drüse zugeschrieben. Ohne Zweifel erfolgen in beiden Drüsen Oxydationsprozesse, aber der Sauerstoff bleibt unzureichend, während im Speichel der Sauerstoff im Ueberschuss zuströmt und Reductionsproducte deshalb im Speichel unmöglich sein würden. Es ist gewiss nicht uninteressant, durch den Blutfarbstoff und seine feinen Aenderungen die Uebersetzung der chemischen Eigenschaften in physikalische, unsern Sinnen wahrnehmbare zu erhalten, und einen Einblick in die Drüsenprozesse zu gewinnen, bei denen dieser Farbstoff selbst eine so wichtige Rolle spielt. Bei passender Aenderung des Apparates wird es auch gelingen für andere Flüssigkeit des Organismus zu ermitteln, ob sie absorbirten Sauerstoff enthalten.

Der Fäulniss habe ich mich auch mit Vorthail zur Umwandlung von Oxyhämoglobin in Hämoglobin bedient, wo es sich darum handelte, letzteres bei völligem Ausschluss von atm. Luft unter Hämochromogenbildung zu zersetzen. Bringt man etwas Oxyhämoglobinlösung in ein unten zugeschmolzenes weiteres Glasrohr und verdünnte Phosphorsäurelösung oder Weinsäure oder Natronlauge in ein engeres und nur einige Centimeter langes unten zugeschmolzenes und in einen massiven Stiel von 5 Cm. Länge ausgezogenes Röhrenstück, lässt dann dies engere Rohr in das weitere hinabgleiten, schmilzt dann dies weitere Rohr oben zu, lässt die so beschickte Röhre so lange bei warmer Temperatur stehn bis die Blutfarbstofflösung keine Spur von Oxyhämoglobinstreifen mehr zeigt, dann noch einige Tage zur Sicherheit, so erhält man beim Umkehren der Röhre und Zusammen-

fließen beider Flüssigkeiten Hämochromogenlösung in einer Weise, dass sie zur Demonstration der Spectralerscheinungen des Hämochromogens besonders geeignet ist. Der im Rohre eingeschlossene Sauerstoff wird von der faulenden Blutfarbstofflösung bald vollkommen entfernt und die Hämoglobinslösung ist hierfür gleich das Reagens. Ueber die Eigenschaften des Hämochromogen, des Hämatoporphyrin und des Hydrobilirubin und ihre Beziehungen zu einander, bin ich noch mit Versuchen beschäftigt, über die ich bald Mittheilungen geben zu können hoffe.
