

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau. — Stellvertretender Direktor: Prof. Dr. *Werner Kollath*.)

Über Fehlerquellen der CO-Bestimmungsmethode nach *Nicloux*.

Von
H. Buresch.

Mit 2 Textabbildungen.

*Nicloux*¹ beschreibt eine Methode zur mengenmäßigen Bestimmung von Kohlenoxyd im Blut und teilt mit, daß er mit dieser Methode Werte bis herab zum normalen, also physiologischen Kohlenoxyd-gehalt des Blutes ermittelt habe, den er „schwankend um 0.1%“ angibt. Im folgenden sei unter I. der technische Teil seines Verfahrens mit der Meßmethode, unter II der chemische dargelegt; dabei werden, um Raum zu sparen, unwesentliche Einzelheiten weggelassen. Die in Klammern angegebenen Seitenzahlen beziehen sich auf das von *Nicloux* herausgegebene unten genannte Buch.

I. Der Kolben des nebenstehenden Apparates (Abbildung aus *Nicloux*, S. 198) soll mit Phosphorsäure dergestalt beschickt werden, daß die gleiche Menge Phosphorsäure hineinkommt, wie man nachher Blut zu verarbeiten gedenkt. Dieser Säure, die 62proz. ist, soll man dann das rund $1\frac{1}{2}$ fache ihres Volumens an Aqua dest. hinzufügen, so daß man so eine etwa 24proz. Phosphorsäure erhält. Danach wird der Kolben in ein Calciumchloridbad von 110° getaucht und nach genügendem Erhitzen mit der Wasserstrahlpumpe evakuiert. Das zu untersuchende Blut wird jetzt in die Glasglocke *E* gefüllt und der Hahn *R* geöffnet, so daß es durch das Rohr *t* in den evakuierten Kolben fließt. Nachspülen mit Wasser. Man läßt kochen, die Säure zerstört das Hämoglobin, und die Blutgase werden frei. Ist der Kochprozeß beendet, läßt man Wasser durch das Rohr *t* nachfließen und drückt so die extrahierten Gase nach oben; sie steigen durch das Rohr *t'* und werden in der Glasschale *C* in eines der Meßgeräte aufgefangen. Die Meßgeräte bestehen a) aus graduierten Zylindern und b) aus dem obenstehend abgebildeten Mikroeudiometer (Abbildung aus *Nicloux*, S. 168). Die Zylinder dienen

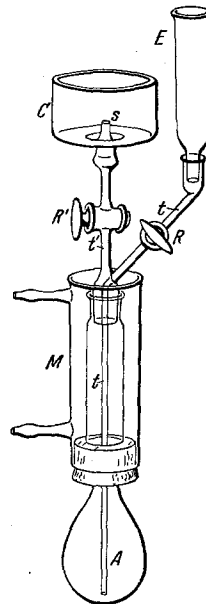


Abb. 1. Apparat von *Nicloux* zur Extraktion des Kohlenoxyds aus dem Blute.

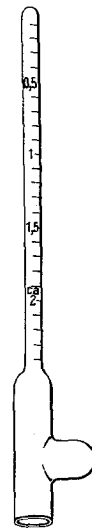


Abb. 2. Mikroeudiometer von *Nicloux*.

zur Messung von Gasmengen, die aus 10 und mehr Kubikzentimetern Blut gewonnen sind; der Mikroaudiometer ist zur Messung von Gasmengen bestimmt, die aus 1—2 ccm Blut (S. 202) extrahiert sind. Seine Gesamtfassungskraft ist 2,5 ccm, die Graduierung gestattet das Ablesen bis herunter zu 0,02 ccm.

II. Die chemischen Vorgänge stellt *Nicloux* wie folgt dar: Durch Kochen mit 24proz. Phosphorsäure wird das Hämoglobin zerstört, und die Blutgase werden frei. Das gewonnene Gas sei zusammengesetzt aus Stickstoff, Sauerstoff, Kohlensäure und Kohlenoxyd. (S. 200: „Les gas receuillis renferment en dehors de l'oxyde de carbone: acide carbonique, oxygène et azote.“) Die Kohlensäure wird durch Ausschütteln mit Kalilauge aus dem Gasgemisch entfernt; danach bleibe noch Stickstoff, Sauerstoff und Kohlenoxyd. Man soll nun Sauerstoff im Überschuß hinzusetzen, wobei ein Verhältnis von dem verbliebenen Gas zu Sauerstoff wie 1:1 als ausreichend anzusehen sei (S. 166). Das Gasgemisch wird jetzt gemessen, wobei sich der Eudiometer in einem mit strömendem Wasser gefüllten Zylinder (konstante Temperatur) befindet. Nach der Ablesung wird durch zur Weißglut erhitzten Platindraht eine Verbrennung des Gas-Sauerstoffgemisches bewirkt, wobei CO zu CO₂ verbrennt. Anschließend schüttelt man erneut mit Kalilauge aus und liest ab wie oben beschrieben, wobei sich gegenüber der ersten Ablesung eine Volumverminderung ergibt. Aus der Differenz zwischen erster und zweiter Ablesung errechnet *Nicloux* den Gehalt des untersuchten Blutes an Kohlenoxyd, wobei die Volumänderung: 2 Vol. CO + 1 Vol. O₂ = 2 Vol. CO₂ berücksichtigt wird. Errechnungsbeispiel nach *Nicloux*, S. 203:

	A. Makroaudiometer	B. Mikroaudiometer
	ccm	ccm
Gaz	16,4	2,4
KOH	5,1	0,63
+ Oxygène	14,75	2,01
Explosion, puis KOH	8,8	1,54
Réduction	5,95	0,47
$\frac{1}{3}$	1,983	0,1566
$\frac{2}{3}$ = CO	3,966	0,3133
Pour 100	15,86	15,66

Für meine an anderer Stelle² veröffentlichten Versuche hatte ich mir seinerzeit die Originalapparatur aus Paris kommen lassen. Die Nachprüfung hat ergeben, daß die Methode aus folgenden Gründen als nicht anwendbar zu bezeichnen ist; da sie aber bekannt ist, soll sie hier kritisch besprochen werden.

Zu I a) Die erste Fehlerquelle findet sich beim Einsetzen des Blutes in den Apparat (Teil E); hierbei steht das Blut in freier Verbindung mit der Raumluft und kann daher sowohl Gase (CO) aufnehmen als abgeben. b) Die Wasserkühlung, an sich durch den auf derselben Seite angebrachten Zu- und Abfluß und durch zu weiten Kühlmantel nicht sehr wirksam, schließt oben in fast gleicher Höhe mit dem Schliff des Kolbenhalses ab. So wird während des Kochens sehr leicht in den evakuierten Kolben die darüberstehende, nur wenige Millimeter hohe Wasserschicht angesogen, was unwesentlich wäre, wenn nicht sofort hinterher auch Luft angesogen würde. Das erschwert aber nicht nur die Extraktion, sondern kann hauptsächlich deshalb ungenaue Werte

schaffen, weil die Laboratoriumsluft unter Umständen CO enthält (undichte Gasschläuche, „durchgeschlagene Brenner“ usw.), welcher Faktor sich besonders bei dem unter a beschriebenen Einsetzen des Blutes auswirken kann. Um diesen Fehler zu umgehen, müßte der Schliff wesentlich tiefer gesetzt werden können, was sich aber durch die darüber befindliche Gabelung verbietet. c) Mit der Makromethode lassen sich die normalen, also physiologischen Kohlenoxydwerte des Blutes keinesfalls feststellen, denn arbeitet man mit Mengen über 20 ccm, so stehen zur Messung nur diejenigen Zylinder zur Verfügung, deren Graduierung bis zu 0,2 ccm ablesen läßt, 0,1 ccm kann geschätzt werden. Da aber bei 0,1% das Mittel des normalen Wertes liegt, ist die Messung selbstverständlich zu grob. Arbeitet man mit Mengen unter 20 ccm Blut, so können zwar Zylinder verwendet werden, deren Teilung noch 0,1 ccm ablesen läßt, die aber so dicht ist, daß der Zwischenwert 0,05 nicht schätzbar ist. Aber selbst wenn das der Fall wäre, so müßte der gewonnene Wert je nach der Menge des verarbeiteten Blutes mit Zahlen zwischen 7 und 10 multipliziert werden, wodurch der Fehler um das Vielfache größer wird als der gesuchte Wert. Aus diesen und weiter unten besprochenen Gründen schaltet die Makromethode für Bestimmung feinerer Werte (unter 10 Vol.-% CO) überhaupt aus, und so bliebe die d) Mikromethode, für die *Nicloux* das obenstehende Beispiel anführt; dabei waren 2 ccm eines Blutes verarbeitet, das 15% CO enthielt (Rechnungsbeispiele für physiologische Werte sind leider nicht angeführt). Diese Menge von nur 2 ccm Blut kann auch wesentlich nicht überschritten werden, denn das Fassungsvermögen des Mikroeudiometers beträgt nur 2,5 ccm; seine feinste Einteilung läßt die 0,02 ccm noch ablesen, die Graduierungsstriche sind bei diesem Wert 2,20 bis 2,23 mm voneinander entfernt. Nun gibt *Nicloux* an, die Ablesung sei so vorzunehmen, daß bis zu 0,02 herunter abgelesen wird und dann eine 10fache Unterteilung geschätzt werden könne, d. h. man solle das $\frac{1}{5}$ mm schätzen! Ganz abgesehen davon, daß Schätzungswerte stets fraglich sind, ist es bei einer Entfernung von 2,2 mm der einzelnen Teilstriche untereinander absolut unmöglich, die $\frac{1}{10}$ Differenz zu schätzen, auch nicht mit Lupenablesung. Dagegen läßt sich mit Lupenablesung die $\frac{1}{2}$ Entfernung der Teilstriche ohne weiteres schätzen, jedoch gilt das nur mit einer Einschränkung: da in gleicher Höhe mit dem Wasserspiegel abgelesen werden muß (Druckausgleich) und 2 Ablesungen (vor und nach der Verbrennung) erforderlich sind, ist ein bei der einzelnen Abschätzung geringer Fehler oft nicht zu vermeiden, der dann mit einem ebensolchen der zweiten Schätzung sehr leicht einen Gesamtschätzungsfehler von 0,01 entstehen läßt. Dazu kommt noch der ganz gewaltige Multiplikator, der 100 beträgt, wenn mit 1 ccm Blut, 50 wenn mit 2 ccm gearbeitet wird. Dadurch wirkt sich der geringste, gar nicht

zu umgehende Schätzungsfehler viel höher aus als der gesamte physiologische CO-Gehalt des Blutes.

Zu II. Die Ansicht *Nicloux'*, daß bei Behandlung von Blut mit 24proz. Phosphorsäure und 110° nur die von ihm genannten, im Blute vorhandenen Gase frei würden, ist irrig. Bei dieser Art der Zerstörung organischer Substanzen müssen sich verschiedene andere gasförmige Stoffe bilden. Das läßt sich leicht nachweisen: man behandle eine einfache organische Lösung z. B. 5proz. Stärkelösung genau nach der Vorschrift von *Nicloux*; dann ergibt sich zwischen erster und zweiter Messung eine Volumverminderung, die nach der Berechnung von *Nicloux* 0,3% CO bedeuten würde. Blutserum und Citratplasma zeigen noch etwas höhere Werte. Da bei den genannten Stoffen diese Volumverminderung (die bei gleichem Material konstant ist) sicher nicht auf die Anwesenheit von CO zurückgeführt werden kann, bleibt nur der Schluß, daß sich bei der Zerstörung der organischen Substanzen durch die kochende Säure gasförmige Stoffe bilden müssen, die ebenfalls im Sauerstoffüberschuß verbrennen. Es ist möglich, daß aus den Eiweißstoffen des Serums zum Teil NH_3 entsteht; nach der Formel $4 \text{NH}_3 + 3 \text{O}_2 = 2 \text{N}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$ würde sich hier schon eine Verminderung von 7 auf 2 Volum ergeben (das Volum des entstehenden Wassers käme rechnerisch nicht in Betracht). Mißt man nach dem Verbrennen, also vor dem Ausschütteln mit Kalilauge, so findet man jedenfalls eine erhebliche Volumverminderung; schüttelt man danach mit Kalilauge aus, so zeigt sich nochmals eine Volumverminderung. Demnach müssen also auch gasförmige Kohlenwasserstoffe entstehen (wohl aus Blutzucker, Milchsäure usw.), die bei der Verbrennung Kohlensäure ergeben. Ferner ist die Möglichkeit, daß sowohl aus den Lipoiden (Cholesterin, Lecithin usw.) wie auch aus den Fetten flüchtige Substanzen in größerer oder kleinerer Menge entstehen, nicht von der Hand zu weisen. Denn nach von mir angestellten Versuchen zeigt Citraplasma desselben Spenders vor und nach einer fettreichen Mahlzeit entnommen, verschiedene Werte, wobei die gefundene Volumverminderung bei dem nach dem Essen entnommenen Material etwas größer war als bei dem vorher entnommenen.

Weiterhin wurde Citratblut verarbeitet, das unter folgenden Bedingungen gewonnen war: a) Die Blutspender hatten vorher sicher kein Kohlenoxyd in irgendeiner Form geatmet (Nichtraucher, kein Leuchtgas); b) ferner wurde das Blut vor der Verarbeitung noch 12 Stunden im Sauerstoffstrom bei Belichtung ventiliert; c) schließlich wurde noch Blut von Tieren (Hammel) entnommen und eben so wie oben ventiliert.

Vorausgeschickt muß noch werden, daß bei all diesen Untersuchungen mit 50 und 100 ccm Material gearbeitet wurde, um die Fehler der *Nicloux*schen Meßmethode soweit wie möglich auszuschalten und daß außerdem noch *Kontroll-*

messungen in Gasbüretten vorgenommen wurden, die neben erheblich feinerer Graduierung die Messung viel größerer Gasmengen gestatteten. Auch wurde mit größerem Sauerstoffzusatz gearbeitet, denn da die Umsetzungen bei der Verbrennung mengenmäßig gar nicht bekannt sind, schien das von *Nicloux* angegebene Verhältnis, extrahiertes Gas:Sauerstoff wie 1:1, keine Gewähr für restlose Verbrennung zu bieten.

Bei der Untersuchung des wie oben angegeben vorbereiteten Blutes ergab sich: 1. Bei sicher CO-freiem Blute zeigen sich stets Volumverminderungen, die erheblich größer sind als der von *Nicloux* angegebene normale Gehalt des Blutes an Kohlenoxyd. 2. Die Volumverminderungen sind individuell sehr verschieden und schwanken zwischen 0,5 und 2,5%; diese Schwankungen beruhen teilweise sicher darauf, daß die festen Bestandteile des Blutes, im Mittel 45%, schon beim einzelnen gesunden Individuum um $\pm 5\%$ schwanken und daß diese Schwankung je nachdem, wann die Blutentnahme erfolgt, noch größer sein kann, z. B. nach körperlicher Arbeit; auch spricht hier neben anderen Faktoren wahrscheinlich der Hämoglobingehalt mit. Zuletzt sei noch erwähnt, daß *Nicloux* uns mit 0,11% das Mittel aus 10 Bestimmungen (S. 14: „0 cc 11 dans le sang des nouveau-nés, moyenne de dix détermination“) angibt, nicht aber den höchsten und niedersten Wert; bei der geringen Anzahl der Bestimmungen aber ist die Amplitude wichtig. Nach dem Vorstehenden erübrigt es sich, auf nebensächliche Fehler der Methode einzugehen.

Zusammenfassung.

Auf Grund eigener Untersuchungen hat sich ergeben, daß die von *Nicloux* angegebene Methode der Kohlenoxydbestimmung im Blut für die exakte Bestimmung kleinerer und mittlerer CO-Mengen (unter 10%) nicht anwendbar ist. Demnach können physiologische Werte von ihr nicht entfernt erfaßt werden.

Literaturverzeichnis.

- ¹ *Nicloux, Maurice*, L'oxyde de carbone et l'intoxication oxycarbonique. Paris: Masson et Cie. 1924. — ² *Buresch*, Arch. Gewerbepath. 5, H. 2 (1934).