

## Über die Menge des bei der Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin aufgenommenen Sauerstoffs.

Von **Max Lebensbaum.**

(Mit 1 Holzschnitt.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 17. März 1887.)

Unsere Kenntniss der Blutkrystalle ist durch die Untersuchungen der letzten Jahre wesentlich erweitert worden. Während noch bis vor wenigen Jahren nur das Oxyhämoglobin und etwa noch das Kohlenoxydhämoglobin in krystallinischem Zustande bekannt und analysirt waren, machten Hüfner und Otto<sup>1</sup> vor etwa fünf Jahren die Beobachtung, dass auch das durch den einen Absorptionsstreifen im Roth ausgezeichnete Methämoglobin ebenfalls krystallisirt und die gleiche Zusammensetzung, wie das Oxyhämoglobin hat. Hüfner hat dann gemeinschaftlich mit seinen Schülern R. Külz<sup>2</sup> und Jak. G. Otto<sup>3</sup> gezeigt, dass das reine krystallisirte Methämoglobin ebensoviele austreibbaren Sauerstoff als das Oxyhämoglobin enthalte; nur ist der Sauerstoff im Methämoglobin fester als im Oxyhämoglobin gebunden.

Dass das reducirte venöse Hämoglobin ein ebenfalls krystallisirender Körper ist, hat nach einer kürzlich erschienenen Publication von August Ewald<sup>4</sup> zuerst W. Kühne<sup>5</sup> an mikroskopischen Präparaten gesehen. Diese Beobachtung Kühne's gerieth jedoch in Vergessenheit, namentlich nachdem es Hoppe-Seyler<sup>6</sup> nicht gelungen, sein reducirtes Hämoglobin krystallinisch

<sup>1</sup> Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. VII, S. 65—70.

<sup>2</sup> l. c. Bd. VII, S. 366.

<sup>3</sup> Pflüger's Archiv, Bd. XXXI, S. 245.

<sup>4</sup> Zeitschrift für Biologie, Bd. XXII, S. 462, 1886.

<sup>5</sup> Virchow's Archiv, Bd. XXXIV, S. 423.

<sup>6</sup> Dessen Med. chem. Untersuchung, Heft III, S. 366. 1868.

zu erhalten. Im Jahre 1880 hat Hüfner<sup>1</sup> unter dem Namen „krystallinisches Hämoglobin“ Krystalle des reducirten Hämoglobins beschrieben, die er aus Menschenblut erhielt, als dasselbe zwei Monate lang bei Sommertemperatur in zugeschmolzenen Röhren faulte. Im verflossenen Jahre haben dann M. Nencki und N. Sieber<sup>2</sup> mitgetheilt, dass aus gefaultem Pferde- oder Menschenblute nach gleichem Verfahren wie das Oxyhämoglobin nur bei Ausschluss von Sauerstoff venöse Hämoglobinkrystalle in jeder beliebigen Menge dargestellt werden können.

Ausser diesen wasserlöslichen Hämoglobinarten wurde von M. Nencki und N. Sieber<sup>3</sup> als Parahämoglobin die in Wasser unlösliche durch Einwirkung von Alkohol auf Oxyhämoglobinkrystalle entstehende Modification des Hämoglobins beschrieben. Dieses Hämoglobin hat die gleiche procentische Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin, ist in Wasser und Alkohol unlöslich, von wässerigen Säuren und Alkalien wird es allmählig gelöst und gleichzeitig in Hämatin und Eiweiss gespalten.

Bei dieser Spaltung des Parahämoglobins in Eiweiss und Hämatin ist nach den Beobachtungen von Nencki und Lachowicz<sup>4</sup> nicht allein Sauerstoff, sondern auch Wasser betheilig. Bringt man in mit Quecksilber abgesperretes Eudiometer Parahämoglobin, trockenen Sauerstoff und ammoniakhaltigen absoluten Alkohol zusammen, so löst sich ein Theil des Parahämoglobins im Alkohol mit schön rother Farbe auf und die Lösung spectroscopisch untersucht, zeigt nur einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E*. Selbst nach zweitägigem Stehen blieb die Farbe der Flüssigkeit unverändert und zeigte keine Spur eines Absorptionsstreifen im Roth. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das Eudiometer sammt seinem Inhalt in Wasser gebracht und jetzt konnte man sehen, wie bei Berührung mit dem letzteren die Farbe der Lösung sich änderte. Sie wurde braunroth und bei der spectroscopischen Untersuchung zeigte sich, dass der Streifen zwischen

---

<sup>1</sup> Zeitschrift für phys. Chem., Bd. IV, S. 382.

<sup>2</sup> Berliner chemische Berichte 1886, S. 129 u. 410.

<sup>3</sup> Archiv für experimentelle Patholog. und Pharmakologie, Bd. XX, S. 332.

<sup>4</sup> Id. Bd. XX, S. 339.

*D* und *E* verschwunden war und statt dessen der Hämatingstreifen im Roth sichtbar wurde.

Nencki und Lachowicz wiederholten den Versuch nur mit der Abänderung, dass jetzt das Parahämoglobin mit wässriger Kalilösung in Berührung gebracht wurde. 0·3612 Grm. über  $\text{SO}_4\text{H}_2$  getrockneten Parahämoglobins wurden in ein mit Quecksilber und Sauerstoff gefülltes Eudiometer in einem Gläschen hineingebracht. Das Volum des Sauerstoffs auf  $0^\circ$  und 760 Mm. Barometerstand reducirt, war = 36·29 CC. Hierauf wurden noch 55 CC. 5% Kalilauge hinzugelassen, das Ganze jetzt über Quecksilber stehen gelassen und häufig umgeschüttelt. Nach vier Tagen, als das Parahämoglobin vollkommen gelöst war, wurde das Eudiometer sammt Inhalt ins Wasser gebracht und das rückständige  $\text{O}_2$ -Volumen abgelesen. Auf  $0^\circ$  und 760 Barometerstand reducirt, war dasselbe = 20·83 CC. Danach wurden 15·36 CC. oder 0·02196 Grm. Sauerstoff absorbirt. 100 Grm. Parahämoglobin haben also bei der Spaltung in Hämatin und Eiweiss 6·08 Grm. Sauerstoff absorbirt.

Von Hoppe-Seyler rührt die Beobachtung her, dass wässrige Oxyhämoglobinlösungen mit verdünnten Alkalien bei völligem Sauerstoffausschluss zusammengebracht zunächst nicht in Hämatin und Eiweiss zerfallen, sondern es entsteht eine schön gefärbte Flüssigkeit, welche noch bei sehr grosser Verdünnung nur einen Streifen ziemlich genau in der Mitte zwischen den Linien *D* und *E* im Spectrum hervorruft. Der Farbstoff von dieser charakteristischen Eigenschaft wird von ihm Hämochromogen genannt. Bei Luftzutritt werde das Hämochromogen sofort zersetzt, wobei unter Sauerstoffaufnahme Hämatin entsteht.

Wie aus dem Obigen also ersichtlich, wird sowohl aus dem Oxyhämoglobin, wie aus dem Parahämoglobin bei Ausschluss von Sauerstoff und Wasser zunächst das Hämochromogen gebildet. Ob in dem Hämochromogen das Eiweiss noch in einer chemischen Verbindung mit dem Farbstoff sich befindet, ist nicht entschieden. Soviel ist nur sicher, dass bei der Bildung des Hämamins aus dem Hämochromogen Sauerstoff und Wasser mitwirken. Bei Ausschluss eines der beiden Factoren entsteht kein Hämatin.

Wie viel Sauerstoff bei der Abspaltung des Hämamins aufgenommen wird, darüber existirt nur die einzige, oben citirte

Bestimmung von Lachowicz und Nencki und zwar bezüglich des Parahämoglobins. Es war daher wünschenswerth, derartige Bestimmungen zunächst auch mit Oxyhämoglobin auszuführen. Im Falle die Menge des aufgenommenen Sauerstoffs stets eine constante Grösse war, liess es sich erwarten, dass weitere derartige Bestimmungen mit Kohlenoxyd, Methämoglobin und dem venösen Hämoglobin zu interessanten Aufschlüssen über die Natur dieser Körper führen werden. Auf Vorschlag von Professor Nencki habe ich diese Bestimmungen unternommen, und zwar zunächst in ähnlicher Weise, wie dies von Nencki und Lachowicz geschah. Zweimal aus lauwarmem Wasser umkrystallisirtes Oxyhämoglobin wurde durch Abpressen zwischen Fliesspapier möglichst von der Mutterlauge befreit und, um das Trockengewicht der zur Sauerstoffabsorption verwendeten Portion zu erfahren, ein abgewogener Theil der feuchten Krystalle im Luftbade bei 110 bis 115° im Wasserstoffstrome bis zu constantem Gewichte getrocknet. Gleichzeitig wurde ein anderer Theil der gleichen Krystalle in ein offenes Gläschen abgewogen, das Gläschen in ein mit bekanntem Volum Sauerstoff gefülltes Eudiometer über das Quecksilber hineingeschoben und hierauf mittelst einer gebogenen Pipette 20 bis 25 CC. 5% Kalilauge in das Eudiometer hineingebracht. Trotz häufigen Schüttelns lösten sich die Hämoglobinkrystalle nur langsam auf, so dass die völlige Auflösung, je nach der Menge der angewandten Krystalle erst nach vier bis sechs Tagen erfolgte. Man konnte gut sehen, dass mit Beginn der Auflösung die Farbe der Flüssigkeit gleich die braunrothe Nuance alkalischer Hämatinlösung annahm. Um sicher zu sein, dass nach völliger Auflösung des Oxyhämoglobins auch vollkommene Spaltung desselben eintrat und kein Sauerstoff mehr absorbirt werde, liess ich gleich bei dem ersten Versuche das Eudiometer noch einen Tag länger stehen. Gegen meine Erwartung fand ich am folgenden Tage, dass das Sauerstoffvolum sich merklich verminderte als Zeichen, dass von der alkalischen Flüssigkeit noch immer Sauerstoff absorbirt werde. Dies war auch in den folgenden Tagen der Fall, so dass die Hauptmenge des Sauerstoffes erst nach der Auflösung der Krystalle absorbirt wurde. Erst am 30. Tage habe ich den Versuch unter-

brochen und eine zweite gleichzeitig aufgestellte Bestimmung liess ich noch länger, nämlich bis zum 42. Tage stehen.

Das Resultat der beiden Bestimmungen war folgendes:

I. Angewandte feuchte Hämoglobinkristalle = 0·92 Grm. entsprechend 0·443 Grm. bei 110° getrockneten Oxyhämoglobins.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption<sup>1</sup>:

$$V' = 38\cdot6 \quad D = 208 \quad B = 697 \quad T = 17\cdot3 \quad e = 14\cdot697$$

und daraus:

$$V^{\circ} = 22\cdot6778 \text{ CC. O}_2.$$

Nach 30tägigem Stehen wurde das Endiometer in Wasser überbracht und das rückständige Sauerstoffvolum abgelesen.

$$V' = 12\cdot8 \quad B = 691 \quad T = 13\cdot3 \quad e = 11\cdot383$$

und daraus:

$$V^{\circ} = 10\cdot9144 \text{ O}_2.$$

0·443 Grm. Oxyhämoglobin absorbirten demnach nach 30tägigem Stehen bei Zimmertemperatur:

11·7634 CC. O<sub>2</sub> (22·6778 — 10·9144) = 0·01682 Grm. O<sub>2</sub>  
oder 3·797% Sauerstoff.

## II. Versuch. Dauer 42 Tage.

Angewandtes trockenes Oxyhämoglobin = 0·612 Grm.

Ursprüngliches Sauerstoffvolumen:

$$V' = 54 \quad D = 194 \quad B = 695 \quad T = 17\cdot5 \quad e = 14\cdot882$$

und daraus:

$$V^{\circ} = 32\cdot459 \text{ O}_2.$$

<sup>1</sup> Es bezeichnen hier, wie in den folgenden Versuchen:

*V'* das abgelesene Volum des Sauerstoffes im Endiometer.

*D* den Unterschied zwischen dem äusseren und inneren Niveau des Quecksilbers.

*B* den Barometerstand.

*T* die Temperatur.

*e* die Spannkraft des Wasserdampfes bei der Temperatur *T*.

*V*<sup>°</sup> das nach der Formel

$$V^{\circ} = V' \cdot \frac{B - D - e}{760} \cdot \frac{273}{273 + T}$$

auf 0° T und 760 Mm. Barometerstand reducirte Gasvolumen.

Nach Beendigung des Versuches:

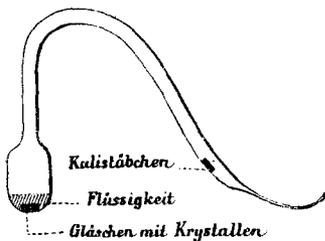
$$V' = 13 \quad B = 706 \quad T = 14 \cdot 6 \quad e = 12 \cdot 378$$

und daraus:

$$V^{\circ} = 11 \cdot 26 \text{ O}_2.$$

Die Menge des absorbirten Sauerstoffs war also hier  $21 \cdot 199 \text{ CC. } (32 \cdot 459 - 11 \cdot 26) = 0 \cdot 0303 \text{ Grm. O}_2$  oder  $4 \cdot 95\% \text{ O}_2$ .

Wie man sieht, ist in der Probe, die länger gestanden ist, auch die Menge des absorbirten Sauerstoffs grösser. Es war daher zu untersuchen, ob durch noch längeres Stehen der alkalischen Flüssigkeit die Sauerstoffabsorption nicht ein Ende haben wird. Um aber das umständliche lange Stehen des Eudiometers über Quecksilber zu vermeiden, wurde die alkalische Hämoglobin-



lösung statt mit reinem Sauerstoff mit Luft stehen gelassen. Die Anordnung des Versuches war folgende: Eine  $1 \cdot 3 - 1 \cdot 5 \text{ Mm.}$  weite Röhre von leicht schmelzbarem Glase wurde an einem Ende zu einer etwa  $300 - 400 \text{ CC.}$  haltigen Kugel aufgeblasen und zunächst mit dem, die feuchten abgewogenen Krystalle

enthaltenden Gläschen und  $20 - 25 \text{ CC.}$  destillirten Wasser beschickt. Hierauf wurde das Glasrohr umgebogen und in das vordere Knie etwa  $5 \text{ Ctm.}$  von dem offenen Ende entfernt ein abgewogenes Kalistückchen  $1 - 1 \cdot 5 \text{ Grm.}$  hineingeschoben. Jetzt wurde das Ende des vorderen Knies am Gebläse vorsichtig — damit das Kalistückchen nicht in die Flüssigkeit hineinfalle — ausgezogen und zu einem capillaren Ableitungsröhrchen umgebogen. Nun liess ich den so beschickten, noch immer mit der äusseren Luft communicirenden Apparat, der dann die in nebenstehender Figur abgebildete Form hatte, bei der Zimmertemperatur etwa eine Stunde offen stehen, notirte die Temperatur und Barometerstand und schmolz hierauf das capillar umgebogene Ende mit einer spitzen Flamme zu. Jetzt wurde durch Umdrehung der Kugel das Kalistückchen im Wasser gelöst und das Ganze bei Zimmertemperatur an ruhigem Orte stehen gelassen. Bei wieder-

holtem Umrühren erfolgte die vollständige Auflösung der Krystalle etwa am vierten bis fünften Tage. Ich liess jedoch die Kölbchen etwa ein bis zwei Monate stehen. Die Farbe der Lösung auch nach so langem Stehen war die des Hämatins, wie man auch spectroscopisch den Hämatinstreifen im Roth sah. Nach Beendigung des Versuches wurde das capillare Ende des Kölbchens unter Quecksilber abgebrochen und durch gelindes Erwärmen ein Theil der eingeschlossenen Luft in ein mit Quecksilber gefülltes Eudiometer übergetrieben, dazu noch der Rauminhalt des Kölbchens genau ausgemessen. Nach der Ablesung des Volums des aufgefangenen Gases wurde der noch vorhandene Sauerstoff durch Pyrogallussäure und Kali in der von Hempel<sup>1</sup> empfohlenen Concentration absorbirt. Aus der Differenz zwischen dem normalen Gehalte der Luft an Sauerstoff  $20 \cdot 77 : 79 \cdot 23$  und dem jetzt gefundenen Sauerstoffgehalte wurde dann die von der alkalischen Blutlösung absorbirte Sauerstoffmenge berechnet.

In ähnlicher Weise habe ich nicht allein mehrere Bestimmungen mit Oxy-, sondern auch mit Kohlenoxydhämoglobin ausgeführt. Das durch Einleiten von Kohlenoxyd in eine Auflösung der Oxyhämoglobinkrystalle erhaltene Präparat wurde noch einmal aus lauwarmem Wasser umkrystallisirt und durch Abpressen zwischen Fliesspapier möglichst von der Mutterlauge befreit. Die Trockengewichtsbestimmung in einem anderen Theil der feuchten Krystalle geschah auch hier bei  $110 - 115^\circ$  im Wasserstoffstrome. Nach der Bestimmung von Dr. J. Marshall<sup>2</sup> werden von 1 Grm. Hämoglobin  $1 \cdot 205$  CC. (bei  $0^\circ$  und 1 Meter Druck) Kohlenoxyd festgehalten. Wenn daher bei der Zersetzung des Kohlenoxydhämoglobins durch Alkali in Hämatin und Eiweiss Kohlenoxydgas frei werden sollte, so wären bei der geringen Menge der von mir angewandten Substanz —  $0 \cdot 13 - 0 \cdot 26$  Grm. nicht mehr nachweisbare und bestimmbare Spuren von Kohlenoxyd in den aus den Kölbchen entnommenen Gasproben zu erwarten. Nach ungefährender Berechnung wäre das CO-Quantum etwa  $0 \cdot 01 - 0 \cdot 02$  Ctm. Ich konnte daher auch mittelst Salzsäure und Kupferchlorür in den entnommenen Gasproben qualitativ kein

<sup>1</sup> Methoden der Gasanalyse. Braunschweig 1880, S. 45.

<sup>2</sup> Zeitschrift f. physiol. Chemie, Bd. VII, S. 91.

Kohlenoxyd nachweisen und betrachte die für das Kohlenoxyd-hämoglobin erhaltenen niedrigen Zahlen als dem wahren Sachverhalte entsprechend.

Die nach dieser Methode gemachten Bestimmungen haben folgende Resultate ergeben.

### III. Versuch.

Zugeschmolzener Kolben von 361 CC. Volumen bei 14° C. und 718 Barometerstand. Hineingebracht 20 CC. 5% Kalilösung und 0.7405 Grm. feuchter Oxyhämoglobinkristalle = 0.336 Grm. trockener entsprechend. Das Volum der Luft im Kolben auf 0° und 760 Mm. Barometerstand reducirt, war:

$$V' = 341 \quad B = 718 \quad T = 14 \quad e = 11.908$$

$$V^{\circ} = 301.358 \text{ CC.}$$

Analyse eines Theiles der Kolbenluft nach 49tägigem Stehen ergab, dass:

$$V' = 38 \quad B = 697.5 \quad D = 292 \quad T = 16.4 \quad e = 13.885$$

$$\text{und daraus: } V^{\circ} = 18.47.$$

18.47 CC. der aus dem Kolben entnommenen Luft nach Umschütteln mit Pyrogallussäure und Kalihydrat enthielten Stickstoff

$$V' = 17.6 \quad B = 706 \quad T = 11 \quad e = 9.72$$

$$V^{\circ} = 15.4982 \text{ CC. N}_2.$$

Daraus folgt, dass die analysirte Luft 2.972 CC. O<sub>2</sub> enthielt, also waren aus der Kolbenluft 14.097 CC. O<sub>2</sub> = 0.02016 Grm. oder 6.00% O<sub>2</sub> absorbiert.

### IV. Versuch.

Angewandt 0.5566 Grm. feuchter Oxyhämoglobinkristalle = 0.285 trockener Substanz. Kolbenluft auf 0° und 760 Mm. Barometerstand reducirt = 301.358 CC. Analyse der Kolbenluft nach 55 Tagen.

$$V' = 45.4 \quad D = 253 \quad B = 714.5 \quad T = 13.9 \quad e = 11.832.$$

$$V^{\circ} = 25.56 \text{ CC. O}_2 + \text{N}_2.$$

$$\frac{21.41 \text{ CC. N}_2 \text{ nach Absorption des O}_2 \text{ durch Pyrogallussäure}}{4.15 \text{ CC. O}_2.}$$

Demnach haben 0·285 Grm. Oxyhämoglobinkrystalle 13·67 CC.  $O_2 = 0\cdot01955$  Grm. oder 6·85%  $O_2$  absorbirt.

## V. Versuch.

Angewandt 0·719 Grm. feuchter Krystalle = 0·324 Grm. trockener Substanz. Kolbenluft auf 0° und 760 Mm. Barometerstand reducirt = 204·967 CC.

Analyse der Kolbenluft nach 25 Tagen

$$V' = 45\cdot4 \quad D = 284 \quad B = 696 \quad T = 14\cdot8 \quad e = 12\cdot538$$

$$V^\circ = 18\cdot8462 \text{ CC. } O_2 + N_2.$$

15·5975 CC.  $N_2$  nach Absorption des Sauerstoffs durch Pyrogallussäure.

$$\underline{3\cdot2487 \text{ CC. } O_2}$$

Demnach wurden 7·239 CC.  $O_2 = 0\cdot01035$  Grm.  $O_2$  absorbirt, also 3·19%  $O_2$ .

## VI. Versuch.

Der Versuch wurde im Eudiometer gemacht mit Sauerstoff. Angewandtes feuchtes Oxyhämoglobin 1·6375 Grm. = 0·5739 Grm. trockener Substanz. Zusatz von 25 CC. 5% Kalilauge.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$$V' = 27\cdot2 \quad B = 715 \quad D = 105 \quad T = 12 \quad e = 10\cdot457$$

$$V^\circ = 20\cdot55 \text{ CC.}$$

Nach achttägigem Stehen

$$V' = 16\cdot6 \quad B = 714 \quad T = 8\cdot7 \quad e = 8\cdot407$$

$$V^\circ = 14\cdot93 \text{ CC. } O_2.$$

Es wurden also 5·62 CC.  $O_2$  oder 1·4%  $O_2$  absorbirt.

**Bestimmungen mit CO-Hämoglobinkrystallen.**

## I. Versuch.

Angewandtes trockenes CO-Hämoglobin 0·1888 Grm. Die Krystalle waren vorher sechs Monate lang in absolutem Alkohol

aufbewahrt. Die Form der Krystalle war vollkommen erhalten und im Polarisationsmikroskope zeigten sie sehr schönes Doppelbrechen. Sie wurden über  $H_2SO_4$  bis zum constanten Gewicht getrocknet. Versuch mit Sauerstoff im Eudiometer.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$$V' = 46.3 \quad B = 718.5 \quad D = 338.5 \quad T = 15.6 \quad e = 13.197$$

und daraus:

$$V^\circ = 21.1381 \text{ CC. O}_2.$$

Nach siebentägiger Absorption

$$V' = 22.2 \quad B = 716 \quad T = 15.8 \quad e = 13.366$$

und daraus

$$V^\circ = 19.40 \text{ CC. O}_2.$$

Es haben also 0.1888 Grm. CO-Hmgl. 1.7367 CC. = 0.002483 Grm. oder 1.31%  $O_2$  absorbirt.

## II. Versuch.

Genommen 0.1545 Grm. trockener CO-Hämoglobinkrystalle von derselben Portion wie im I. Versuche. Versuch im Eudiometer mit Sauerstoff.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$$V' = 64.3 \quad D = 223 \quad B = 720 \quad T = 18 \quad e = 15.357$$

$$V^\circ = 38.2289 \text{ CC. O}_2.$$

Nach  $O_2$ -Absorption nach neun Tagen war im Eudiometer:

$$V' = 42.3 \quad B = 720 \quad T = 18 \quad e = 15.357$$

$$V^\circ = 36.793 \text{ CC. O}_2.$$

Es wurden absorbirt 1.4359 CC. = 0.00205 Grm.  $O_2$  oder 1.33%.

## III. Versuch.

Kolbenluft nach Zusatz von 25 CC. Kalilauge auf  $0^\circ$  und 760 Mm. Barometerstand reducirt = 322.5. Angewandtes feuchtes CO-Hämoglobin = 0.2396 Grm. trockener Substanz.

Analyse der Kolbenluft nach 42tägigem Stehen.

$$V' = 55.3 \quad D = 196 \quad T = 11.3 \quad B = 718.5 \quad e = 9.99$$

$$V^\circ = 35.81 \text{ CC. O}_2.$$

Nach Absorption des Sauerstoffs durch Pyrogallussäure blieb im Kolben 29.0789 CC. N<sub>2</sub>.

Demnach betrug die Absorption 3.79<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. O<sub>2</sub>.

#### IV. Versuch.

Kolbenluft auf 0° und 760 Mm. Barometerstand reducirt = 320.8 CC. Genommen 0.3154 feuchter = 0.133 trockener CO-Hämoglobinkristalle.

Nach 58tägigem Stehen Analyse der Kolbenluft ergab:

$$V' = 44.6 \quad B = 712.5 \quad D = 254 \quad T = 17.1 \quad e = 14.513$$

$$V^\circ = 24.519 \text{ CC. O}_2 + \text{N}_2. \text{ Nach Zusatz von Pyrogallussäure:}$$

$$19.746 \text{ CC. N}_2.$$

$$\frac{4.773 \text{ CC. O}_2. \text{ Es waren hieraus } 4.1 \text{ CC.} = 0.05863 \text{ Grm. O}_2 \text{ absorbirt, was } 4.4\% \text{ O}_2 \text{ beträgt.}$$

#### V. Versuch.

Angewandte feuchte Substanz = 0.272 Grm. trockener Substanz. Die Kolbenluft auf 0° und 760 Mm. Barometerstand reducirt betrug 254.639 CC. Zersetzung der CO-Kristalle durch 25 CC. Kali.

Nach 34 Tagen wurde die Kolbenluft analysirt:

$$V' = 25.3 \quad D = 125 \quad B = 711.5 \quad T = 14.4 \quad e = 12.220$$

$$V^\circ = 18.1596 \text{ CC. N}_2 + \text{O}_2.$$

Nach Zusatz von Pyrogallussäure:

$$V' = 16.6 \quad T = 10 \quad B = 712 \quad e = 9.665$$

$$V^\circ = 14.798 \text{ CC. N}_2.$$

Demnach wurden 5.75 CC. O<sub>2</sub> oder 3.02<sup>0</sup>/<sub>0</sub> O<sub>2</sub> absorbirt.

Die Resultate aller meiner Versuche über die Sauerstoffabsorption durch alkalische Hämoglobinlösungen veranschaulicht die nachfolgende Zusammenstellung:

Oxyhämoglobin absorbiert bei seiner Zersetzung Sauerstoff:

nach 8 Tagen	.....	1·4 $\frac{0}{10}$
„ 25	„	3·19
„ 30	„	3·79
„ 42	„	4·95
„ 49	„	6·0
„ 55	„	6·85

CO-Hämoglobin absorbiert Sauerstoff:

nach 7 Tagen	.....	1·31 $\frac{0}{10}$
„ 9	„	1·33
„ 34	„	3·02
„ 42	„	3·79
„ 58	„	4·4

Ein Blick auf diese Zahlen zeigt, dass die Sauerstoffabsorption sowohl durch das Oxy- sowie Kohlenoxydhämoglobin einfach von der Dauer des Versuches abhängig ist, indem sie mit der Zeit stetig zunimmt und selbst nach 55tägiger Einwirkung nicht constant wird. Da die Spaltung des Hämoglobins in Eiweiss und Hämatin augenblicklich bei der Auflösung des ersteren in Alkali geschieht, so ist die von mir beobachtete Sauerstoffabsorption die Folge zweier verschiedener Processe, und zwar erstens der Sauerstoffaufnahme bei der Entstehung des Hämatins und zweitens unabhängig davon stattfindender Sauerstoffaufnahme durch das Eiweiss in alkalischer Lösung. Durch die Untersuchungen von Nencki und Sieber<sup>1</sup> „Über die physiologische Oxydation“ ist es bekannt, dass Eiweiss, sei es in fixen oder kohlen-sauren Alkalien gelöst, schon bei der Bruttemperatur, rascher beim Kochen Sauerstoff absorbiert und darauf ist es zurückzuführen, dass in meinen Versuchen während und lange nach vollständiger Auflösung des Hämoglobins noch immer weiter Sauerstoff absorbiert wurde. Dass das entstandene Hämatin in alkalischer Lösung selbst weiter Sauerstoff absorbieren, ist bei der Beständigkeit dieses Farbstoffes gegen Alkalien ganz unwahrscheinlich.

Von besonderem Interesse ist die Thatsache, dass Kohlenoxydhämoglobin stets weniger Sauerstoff aufnimmt als die Oxy-

<sup>1</sup> Journal f. prakt. Chemie, Bd. XXVI, S. 10.

verbindung und wahrscheinlich werden derartige Bestimmungen mit den anderen Hämoglobinarten ähnliche Differenzen aufweisen.

Um nun zu erfahren, wie viel Sauerstoff bei der Umwandlung von Oxyhämoglobin in Eiweiss und Hämatin absorbiert wurde, musste die Zersetzung der Hämoglobinkrystalle durch Säuren geschehen, da nach den Versuchen von Neneki und Sieber<sup>1</sup> Eiweiss in saurer Lösung keinen Sauerstoff absorbiert.

Zunächst hatte ich zu untersuchen, welche Säure und in welcher Concentration sich zu der Zersetzung eigne. Feuchte Hämoglobinkrystalle wurden einerseits mit 5%, 1%, 0·5% und 0·1% Schwefelsäure, andererseits mit Oxalsäure von gleichen Concentrationen übergossen und geschüttelt. Am geeignetsten für meinen Zweck zeigte sich die Schwefelsäure von 1 pro Mille, indem erst bei dieser Verdünnung das Hämoglobin sich allmählig klar und ohne Gerinnelbildung löste. Die anfangs hellrothe Farbe der Lösung geht sehr bald in die braunrothe Nuance des Hämatins über. Concentrirtere Mineralsäuren coaguliren das Hämoglobin und das oberflächlich entstandene Gerinnsel verhindert den Sauerstoffzutritt zu den eingeschlossenen Partikeln. Von 3% bis 5% Oxalsäure wird das Oxyhämoglobin ebenfalls gelöst und zersetzt, jedoch nicht so vollständig als wie das mit der Schwefelsäure der Fall ist.

Die Versuche wurden in mit Sauerstoff über Quecksilber gefülltem Eudiometer ausgeführt. Um der vollständigen Zersetzung sicher zu sein, wurden nach erfolgter Auflösung der Krystalle, noch einige Cubikcentimeter  $\frac{1}{2}$ % Schwefelsäure zugesetzt. Nach vollendeter Zersetzung, wenn keine Sauerstoffabsorption zu merken war, wurde die saure Flüssigkeit, um etwa entstandene Kohlensäure zu binden, durch Zusatz von einem Kalistückchen alkalisch gemacht, sodann das Eudiometer in Wasser übertragen und das rückständige Sauerstoffvolumen abgelesen.

Die so ausgeführten Bestimmungen gaben mir folgende Zahlen :

### I. Versuch.

Genommen 1·1999 feuchtes Oxyhämoglobin = 0·4205 Grm. trockener Substanz. Zugesezt etwa 30 CC. 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

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

Vor der Absorption war im Eudiometer Sauerstoff:

$$V' = 45 \quad B = 714 \cdot 5 \quad D = 200 \quad T = 9 \quad e = 8 \cdot 57$$

$$V^\circ = 29 \text{ CC. O}_2.$$

Nach vier Tagen war im Eudiometer O<sub>2</sub>:

$$V' = 30 \quad T = 14 \cdot 3 \quad B = 719 \cdot 5 \quad e = 12 \cdot 14$$

$$V^\circ = 26 \cdot 53 \text{ CC. O}_2.$$

Die Absorption betrug demnach 0·84<sup>0</sup>/<sub>0</sub> O<sub>2</sub>.

### II. Versuch.

Angewandt 0·6757 Grm. feuchter Oxykrystalle = 0·257 Grm. trockener Substanz. Zersetzt mit 25 CC. 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mit nachherigem Zusatz, von circa 2 CC. 1/2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Dauer des Versuches sechs Tage.

Sauerstoff im Eudiometer vor der Absorption:

$$V' = 29 \quad D = 89 \quad B = 712 \quad T = 17 \quad e = 14 \cdot 421$$

$$V^\circ = 21 \cdot 59 \text{ CC. O}_2$$

nach der Absorption:

$$V' = 21 \cdot 4 \quad B = 715 \quad T = 5 \cdot 7 \quad e = 6 \cdot 857$$

$$V^\circ = 19 \cdot 53 \text{ CC. O}_2.$$

Demnach wurden 1·149<sup>0</sup>/<sub>0</sub> O<sub>2</sub> absorbiert.

### III. Versuch.

Angewandte feuchte Oxykrystalle 1·1995 Grm. = 0·457 Grm. trockener Substanz. Zusatz von 30 CC. 1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und nachher circa 2 CC. 1/2<sup>0</sup>/<sub>0</sub> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Volum des Sauerstoffs vor der Absorption:

$$V' = 37 \cdot 5 \quad D = 297 \quad T = 17 \quad B = 712 \quad e = 14 \cdot 421$$

$$V^\circ = 18 \cdot 60 \text{ CC. O}_2$$

nach der Absorption nach acht Tagen:

$$V' = 17 \quad B = 716 \quad T = 10 \cdot 2 \quad e = 9 \cdot 288$$

$$V^\circ = 15 \cdot 238 \text{ CC. O}_2.$$

Also wurden  $1\cdot054\%$  absorbiert.

Es wurden demnach in den drei Versuchen absorbiert:

nach 4 Tagen	.....	$0\cdot84\%$
„ 6 „	.....	$1\cdot15$
„ 8 „	.....	$1\cdot054$

Wie man sieht, stimmen die Bestimmungen ziemlich untereinander. Im ersten Versuche, wo etwas grössere Hämoglobinmenge  $1\cdot1999$  feuchter =  $0\cdot4205$  Grm. trockener Substanz nur vier Tage lang in der sauren Lösung gestanden ist, ist die Quantität des absorbierten Sauerstoffs ein wenig kleiner. Da nach achttägigem Stehen grössere Menge der Substanz nicht mehr Sauerstoff absorbierte, als die kleinere Menge nach sechs Tagen, so ist der Schluss wohl berechtigt, dass die Zersetzung des Hämoglobins und die Sauerstoffaufnahme vollendet war. Im Mittel aus den drei Bestimmungen würden danach 100 Grm. trockenen Hämoglobins beim Zerfall in Eiweiss und Hämatin  $1\cdot014$  Grm. Sauerstoff absorbieren. Das Mittel aus den zwei letzten Bestimmungen ist gleich  $1\cdot1$  Grm.  $O_2$  für 100 Grm. Hämoglobin.

Am Schluss erlaube ich mir meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Nencki, meinen besten Dank für die lebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit auszusprechen.