

(Aus dem tierphysiol. Institut der kgl. landwirtsch. Hochschule zu Berlin
[Professor N. Zuntz].)

Über die „Ferricyanid - Methode“ zur Bestimmung des Sauerstoffs im Blut ohne Blutgaspumpe.

Von

Dr. rer. nat. et med. **Franz Müller**,
Privatdozent an der Universität Berlin.

(Mit 5 Textfiguren.)

Vor einigen Jahren machten ziemlich gleichzeitig Haldane¹⁾ und Hüfner mit v. Zeynek²⁾ die Beobachtung, dass bei der Umwandlung von Oxyhämoglobin oder Kohlenoxydhämoglobin in Methämoglobin durch Ferricyankalium Sauerstoff resp. Kohlenoxyd gasförmig in Freiheit gesetzt wird. Haldane verwertete diese Beobachtung für eine Bestimmung der maximalen Sauerstoffkapazität des Blutes, da er fand, dass die gesamte im Blut enthaltene Sauerstoff- oder Kohlenoxydmenge (unter Abrechnung des physikalisch absorbierten Anteils) quantitativ in Freiheit gesetzt wird. Hüfner und v. Zeynek hingegen erhielten im besten Falle ein Minus von 12 % Sauerstoff gegenüber den mit der Blutgaspumpe erhaltenen Werten, bei Kohlenoxyd aber die zu erwartende Menge, wobei die Konzentration der Hämoglobinlösung spektrophotometrisch bestimmt wurde.

Haldane's Apparat, der nach Art des Knop'schen Azotometers konstruiert ist (Fig. 1), besteht aus einer etwa 120 ccm fassenden Flasche, in der sich ein kleines Gläschen befindet. Sie ist mit einer Bürette mit Niveauröhr verbunden. Als Thermobarometer dient ein Reagensglas, das zu einem kapillaren Wassermanometer leitet und ebenso wie das Fläschchen in einer Wasserwanne steht. 20 ccm mit Luft gut durchgeschüttelten Oxalat- oder defibrinierten Blutes werden nach Abmessung mittels Pipette durch Ammoniak lackfarben gemacht. In dem

1) Journ. of Physiol. vol. 22 p. 298. 1898 und vol. 25 p. 295. 1900.

2) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt. 1899 S. 460 und 491.

Gläschen befindet sich Ferricyankaliumlösung, die nach Verschliessen des Apparates durch Umlegen der Flasche mit der Blutlösung gemischt wird. Die dabei entwickelte Gasmenge wird an der Gradeinteilung der Bürette abgelesen, nachdem der Stand des Manometers durch Eingiessen von warmem oder kaltem Wasser in die Wanne auf die ursprüngliche Höhe gebracht ist. Die so erhaltenen Resultate zeigten bei Parallelbestimmungen im gleichen Blut geradezu ideale Übereinstimmung der maximal gebundenen Sauerstoffmengen.

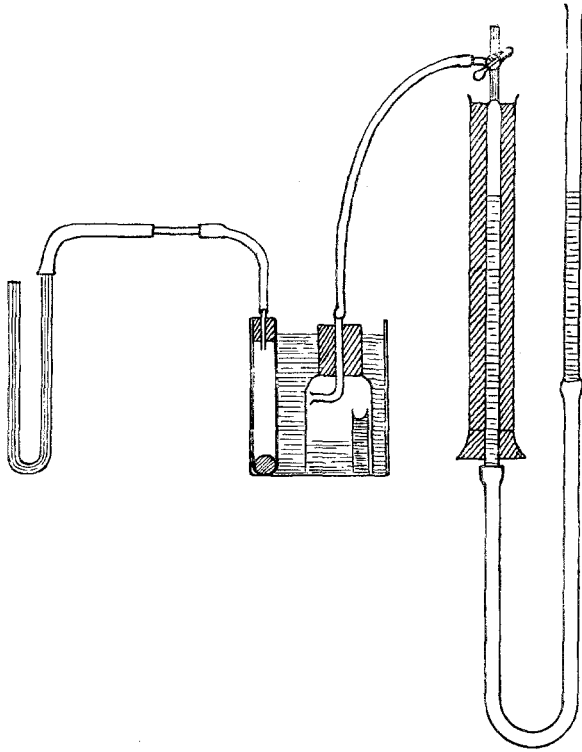


Fig. 1 (nach Haldane).

Es ist leicht ersichtlich, wie grosse Vorteile eine derartige Methode bei der Erledigung vieler Fragen aus der Physiologie und Pathologie bieten musste, zumal wenn man sie in der Weise veränderte, dass nicht nur ungerinnbar gemachtes und mit Luft maximal gesättigtes Blut zur Anwendung gelangte, sondern auch frisches, direkt der Ader entnommenes oder solches von jeder beliebigen Sauerstoffsättigung.

Nachdem Vorversuche ergeben hatten, dass bei genauer Befolgung der Haldane'schen Vorschriften mit dem gleichen Blut sehr genau stimmende Parallelbestimmungen ausführbar sind, und

dass ferner das entwickelte Gas kohlensäurefrei und reiner Sauerstoff ist, ging ich daran, den Apparat im genannten Sinne zu verändern.

Ich hatte mich dabei der Hilfe und des wertvollen Rates von Herrn Professor Zuntz zu erfreuen, dem ich dafür auch hier meinen aufrichtigen Dank sagen möchte. Ihm verdanke ich ferner die Einführung in die gasanalytische Methodik. Ebenso danke ich Herrn Professor A. Loewy herzlichst für die mir gewidmete Hilfe.

I. Beschreibung des Apparates.¹⁾

Der seit nunmehr zwei Jahren von mir benutzte Apparat besteht aus folgenden Teilen (siehe Fig. 2 und 3): 1. dem Schüttelgefäß I von etwa 200 ccm Inhalt. In ihm ist ein etwa 6 ccm fassendes Gläschen (*a*) mit Siegelack eingekittet. Es dient zur Aufnahme der Ferricyankaliumlösung und ist etwa $1\frac{1}{2}$ cm niedriger als das Schüttelgefäß; 2. einem gleich grossen Gefäß II von etwa gleicher Form, das als Thermobarometergefäß dient. I und II stehen durch einen Kapillarschlauch (9), bzw. eine Kapillarglasrohrleitung, die eine durch einen Glashahn (8) verschlossene Seitenöffnung hat, mit zwei ganz gleichen Büretten (*B* und *TB*) in Verbindung. Dieselben sind etwa 40 cm lang und $\frac{1}{2}$ cm weit und besitzen in ihrem Mittelteil eine von 0—10 ccm gehende, in Zwanzigstel ausgeführte Teilung. Das zweite Ende der beiden Büretten führt zu einer gemeinschaftlichen Rohrleitung (*III*), die mittelst Schlauchleitung in ein zweiseitenkliges Niveauröhr (*IV*) ausmündet. Das Schüttelgefäß (*I*) wird abgeschlossen durch einen etwa 2 cm dicken, dreifach durchbohrten Gummistopfen. In seiner ersten Öffnung befindet sich ein sich nach unten etwas erweiterndes Glasstück, das die erwähnte kapillare Schlauchverbindung (9) zur Bürette *B* vermittelt. Die zweite Öffnung trägt den Apparat zur Aufnahme und Abmessung des Blutes. Er besteht aus einem Aufsatz von zwei, je 20 ccm fassenden Kugeln mit zwei Hähnen. Die untere Kugel (2) wird von dem den Gummistopfen durchbohrenden, etwa 5 mm weiten Rohr durch einen Schwanzhahn (1) und von der oberen Kugel (4) durch einen Dreiweghahn (3) getrennt. Der

¹⁾ Der Apparat ist in der Werkstätte von C. Richter-Berlin, Johannisstrasse 13, angefertigt und von dort zu beziehen.

Schwanzhahn gestattet durch die Schwanzbohrung hindurch das Einfüllen von Blut und durch die Vertikalbohrung das Durchtreten von Flüssigkeit aus der Kugel 2 in das Schüttelgefäß. Der Dreiweghahn vermittelt die Kommunikation erstens von Kugel 2 in ein etwa 40 cm langes Kapillarrohr (7) von 1 mm lichter Weite, das mit

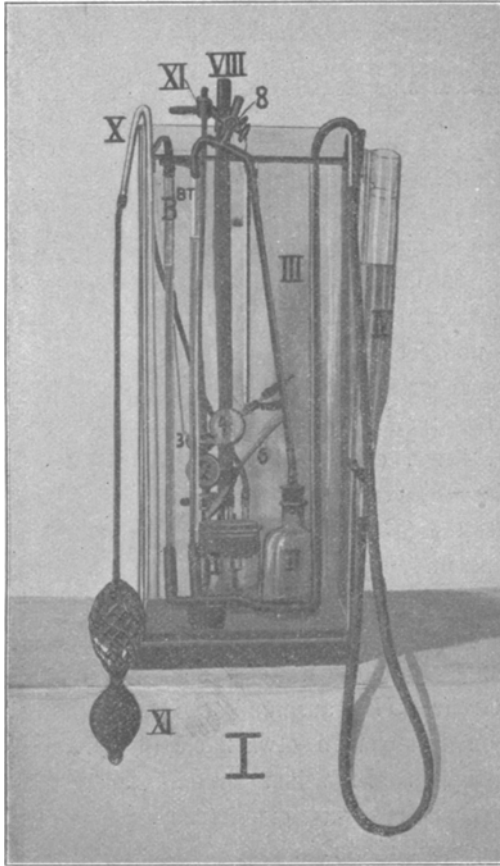


Fig. 2.

die Spitze des Kapillarrohres 7 aus dem Wasser herausragt. Die Büretten sind an einer Metallbrücke V befestigt, die in die Wanne eingehängt wird. Um das Schüttelgefäß aus dem Wasser herausheben und bequem handhaben zu können, hängt es vermittelst einer Klammer VI an einem Metallstabe VII, der durch Doppelmuffe XI an einen ausserhalb des Kastens stehenden Träger VIII angehängt wird. Schliesslich befindet sich in dem Wasserkasten noch

einer Millimeterteilung versehen ist, zweitens von Kugel 2 zu Kugel 4 und drittens von dieser Kugel zu dem Kapillarrohr 7. Die Kugel 4 mündet in eine Schlauchspitze aus. Diese führt zu einer kurzen Rohrleitung (6) von 5 mm lichter Weite, die im Bogen in das Schüttelgefäß durch die dritte Bohrung des Gummistopfens einmündet. An der höchsten Stelle hat sie eine Abzweigung (5), die durch einen Quetschhahn oder einen Glasstab verschlossen wird. Der ganze Apparat mit Ausnahme des Niveaurohres (IV) steht so weit in einem mit Wasser gefüllten, etwa zehn Liter fassenden Glaskasten, dass nur

ein Thermometer und ein bis zum Boden führendes Glasrohr *X*, das mit einem Doppelgebläse *IX* in Verbindung steht.

II. Vorbereitungen.

1. Die beiden Büretten *B* und *TB* und Kugel *2* werden mit Quecksilber kalibriert, und zwar diese ausschliesslich der Bohrung von

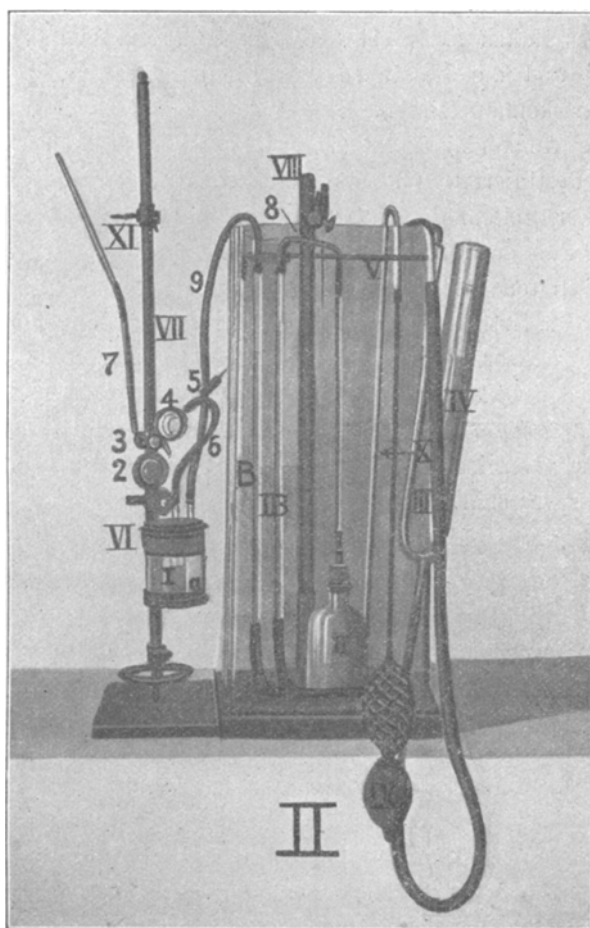


Fig. 3.

Hahn 1, aber einschliesslich der Bohrung von Hahn 3. Dadurch sind die Kaliberfehler der beiden Röhren und die angewendete Blutmenge für mittlere Temperatur bekannt. 2. Durch Auskalibrierung mit Wasser

wird das Verhältnis der Luftvolumina in Gefäß *I* und *II* festgestellt, um die Ausdehnung beider Luftvolumina vergleichen zu können. 3. Nach Zusammenstellung der einzelnen Teile des Apparates werden die zwei Büretten nebst der Leitung *III* und dem Niveaurohr *IV* mit schwach-saurem, durch einen Indikator leicht gefärbten Wasser gefüllt. 4. Bei offenem Hahn (8) wird durch Heben des Niveaurohres das Wasserniveau in *TB* auf etwa 1,0—2,0 eingestellt, darauf Hahn 8 geschlossen. 5. An dem Kugelaufsatz sind die Schwanzbohrung des Hahns 1, Kugel 2, Hahn 3 und Kapillare 7 gereinigt, getrocknet und die Hähne so gestellt, dass die genannten Teile miteinander kommunizieren. Kugel 4 wird mit 20 ccm einer sehr verdünnten Ammoniaklösung (1 ccm konzentrierten Ammoniaks auf 500 ccm destillierten Wassers) vermittelt Kapillarpipette gefüllt und mit der Seitenleitung 6 verbunden. In das Schüttelgefäß *I* werden 10 ccm derselben Ammoniaklösung, in das Gläschen *a* 4 ccm einer gesättigten Ferricyankaliumlösung getan und nunmehr der Gummistopfen fest eingesetzt. Darauf wird durch Heben des Niveaurohres das Wasserniveau in *B* auf etwa 1,0 eingestellt und durch Schliessen der Öffnung (5) das ganze System luftdicht abgeschlossen. Der Schwanzhahn 1 wird durch ein Stückchen Gummischlauch mit Glasstopfen verschlossen und der ganze Apparat samt Aufsatz in das Wasser versenkt.

III. Gang der Sauerstoffbestimmung.

1. Der Stand des Niveaus in den beiden Büretten wird unter sorgfältiger Mischung des Wassers in der Wanne vermittelt Doppelgebläses etwa alle zehn Minuten abgelesen. Wenn die Wassertemperatur von der des Zimmers nicht sehr verschieden ist, so ist nach etwa einer halben Stunde Temperatúrausgleich erreicht, und die Gasvolumina ändern sich nur noch gleichsinnig. Man notiert in diesem Moment die Wassertemperatur und den Barometerstand. 2. Zur Einfüllung des Blutes wird das ganze Gefäß aus dem Wasser herausgehoben, der Stopfen des Schwanzhahns geöffnet und das Blut durch die Schwanzbohrung (siehe Fig. 3) eingefüllt. Verwendet man luft-gesättigtes Blut, so kann dies vermittelt einer Spritze oder durch Ansaugen von der Kapillare 7 aus geschehen. Nach der Füllung wird Hahn 1 auf Mittelstellung gedreht, die Schwanzhahnbohrung aussen verschlossen und der Apparat wieder auf wenige Minuten in das Wasser

versenkt, um das Blut die Wassertemperatur annehmen zu lassen. Man kann, wenn erhebliche Differenzen vorhanden sind, die Volumänderung am Stand der Kapillare 7 beobachten. 3. Darauf wird der Apparat wieder herausgehoben, durch Drehung des Hahn 3 Kommunikation zwischen den beiden Kugeln 2 und 4 hergestellt und sodann durch Vertikalstellung des Hahn 1 Kommunikation zwischen Kugel 2 und dem Schüttelgefäß I. Es läuft nunmehr das Blut in dieses hinein und wird durch die aus der oberen Kugel nachfliessende Ammoniaklösung zum grössten Teil ausgespült. Durch vorsichtiges Schütteln während einiger Sekunden wird das Blut vollkommen lackfarben und durchscheinend gemacht. Darauf ist besonders zu achten! Haldane machte schon darauf aufmerksam, dass nur der aus den Erythrozyten in Lösung gegangene Blutfarbstoff mit Ferricyankalium in Reaktion tritt; auch ich kann dies bestätigen. In einem Fall, in dem die Ammoniaklösung nach langem Stehen zu schwach geworden war, erhielt ich durchaus fehlerhafte Resultate. Ebenso ist selbstverständlich eine vorzeitige Mischung mit der Ferricyankaliumlösung zu vermeiden. 4. Durch Senken des Metallstabs VII wird das Schüttelgefäß I in Horizontalstellung umgelegt und Blut- und Ferricyankaliumlösung gemischt. Man lässt dann die Mischung in Kugel 2 zurückfliessen, um die in ihr befindlichen Blutreste auch in Methämoglobin überzuführen, und schüttelt mehrere Minuten möglichst intensiv. Dabei ist zu beachten, dass während der nunmehr eintretenden Gasentwicklung keine Flüssigkeitstropfen in die Kapillarleitung 9 nach der Bürette B hin mitgerissen werden, da dadurch der Versuch natürlich unbrauchbar wird. Um dies zu verhindern, hänge man das Niveaurohr während des Schüttelns möglichst tief, so dass man die an der Mündung der Leitung 9 hängenden Flüssigkeitstropfen jederzeit leicht durch Heben des Niveaurohres entfernen kann. Nach dem Schütteln wird der Apparat in Wasser versenkt und unter Durchmischung des Wassers einige Minuten bis zur Ablesung gewartet. 5. Nach der ersten Ablesung wird, während der Apparat sich weiter im Wasser befindet, wiederum geschüttelt, u. s. f. vor jeder nun folgenden. Es ist aber ratsam, die Ablesung nicht sofort auf das Schütteln folgen zu lassen, sondern etwa zwei bis drei Minuten zu warten, da die während des Schüttelns sich bemerkbar machende, allerdings geringe, wohl durch Reibung beim Schütteln bedingte Gasausdehnung dann ausgeglichen ist. Vorausgesetzt, dass der Apparat in allen Teilen luftdicht schliesst, so ist

nach spätestens $1\frac{1}{2}$ Stunden die Reaktion beendet und keine Zunahme des Gasvolumens mehr zu beobachten, die nicht etwa durch Änderung der Temperaturverhältnisse bedingt ist.

Der Versuch dauert länger als mit Haldane's ursprünglichem Apparat. Es ist dies verständlich, da wir ein grösseres Luftvolumen haben. Dem stehen aber die grossen Vorteile der umfangreicheren Anwendbarkeit und bequemerem Arbeiten gegenüber.

Interessant ist, dass die Sauerstoffentwicklung aus lackfarben gemachtem Blut nach Zumischung der Ferricyankaliumlösung nie sofort einsetzt, sondern immer erst nach 30–60 Sekunden, selbst bei intensivstem Schütteln, wogegen eine Lösung von Oxyhämoglobinkristallen den Sauerstoff momentan abgibt. Ein neuer Hinweis darauf, dass der Blutfarbstoff im Blut, selbst im lackfarbenen, nicht absolut gleichwertig ist mit einer Lösung von Hämoglobinkristallen!

IV. Resultate an defibriniertem Blut.

Von den so angestellten Parallelbestimmungen sollen folgende Beispiele gegeben werden:

Tabelle I.

Mit Luft gesättigtes defibriniertes Blut: Sauerstoffbestimmung.

| Datum des Versuchs | Blutart | O-Gehalt in % des Blutvolumens red. 0°. 760 mm |
|-----------------------|--------------------|--|
| 4. Juli 1902 | Pferdeblut } | 12,99 } |
| 4. Juli 1902 | Pferdeblut } | 13,00 } |
| 7. Juli 1902 | Pferdeblut } | 14,00 } |
| 7. Juli 1902 | Pferdeblut } | 14,14 } |
| 7. Juli 1902 | Pferdeblut } | 14,22 } |
| 5. Sept. 1902 | Hundeblut, verd. } | 5,14 } |
| 5. Sept. 1902 | Hundeblut, verd. } | 5,18 } |
| 8. Sept. 1902 | Hundeblut } | 11,24 } |
| 8. Sept. 1902 | Hundeblut } | 11,71 } |
| 8. Sept. 1902 | Hundeblut } | 11,80 } |
| 11. März 1903 | Hundeblut } | 24,50 } |
| 11. März 1903 | Hundeblut } | 24,00 } |
| 13. März 1903 | Dass. Hundeblut } | 24,46 } |

Man ersieht aus diesen Zahlen, dass die Methode jedenfalls gut stimmende Parallelwerte gibt. Dabei ist aber vorausgesetzt, dass, wie Haldane schon bemerkt hat, nur frisches Blut angewendet werden darf. Bei der letzten der mitgeteilten Bestimmungen hatte

sich allerdings einmal das Blut zwei Tage ausserhalb des Körpers befunden, ohne dass eine Änderung in der maximalen O_2 -Aufnahme nach Luftschüttelung zu konstatieren war. Es ist dieses Resultat aber fast als eine Ausnahme zu bezeichnen; denn meistens setzt, wie bekannt, sehr bald nach der Entnahme aus dem Körper Bakterienentwicklung ein, die zur Bildung reduzierender Substanzen führt, welche innerhalb der kurzen Zeit vom Ende des Schüttelns bis zur Einwirkung von Ferricyankalium eine unberechenbare Sauerstoffmenge absorbieren können, ohne dass etwa das Blut schon durch den Geruch oder sonstwie nachweisbare Fäulnisstoffe entwickelte. So ergaben z. B. drei unmittelbar hintereinander gemachte Bestimmungen von einem sieben Tage alten Blut, das am Tage zuvor noch die vorstehend angegebenen exakt stimmenden Werte von 13,00 und 12,99 % geliefert hatte, 1. 10,245 %, 2. 9,43 %, 3. 8,55 %, obwohl das Blut jedesmal vor Einfüllung in den Apparat von neuem mit Luft durchgeschüttelt war. Haldane macht darauf aufmerksam, dass sich bei der Ferricyankalium-Entgasung das Vorhandensein von Bakterien dadurch zeigt, dass nach maximaler Sauerstoffentwicklung eine Gasabnahme eintritt. Übereinstimmend mit ihm möchte auch ich verlangen, dass das Niveau in der Bürette *B*, abgesehen von durch Temperaturschwankungen bedingten Änderungen, mindestens zehn Minuten konstant bleiben muss, bevor man den Versuch als beendet betrachten darf. Sinkt es irgendwie erheblich, ohne dass die Temperatur sinkt, so war das Blut verunreinigt, und der Versuch ist zu verwerfen. Man wird also, wie das ja auch bei den Bestimmungen mit der Blutgaspumpe die Regel ist, stets nur möglichst frisches Blut benutzen resp. dasselbe bis zum nächsten Tag auf Eis aufbewahren (Näheres siehe später noch einmal).

Kohlenoxydbestimmung.

Wie erwähnt, kann die Reaktion mit Ferricyankalium auch auf kohlenoxydhaltiges Blut Anwendung finden: die Gesamtkohlenoxydmenge soll dabei nach Haldane in Freiheit gesetzt werden. Ausser später noch anzuführenden Beispielen sei hier ein Doppelversuch angeführt, welcher die Richtigkeit dieser Behauptungen vollkommen bestätigt:

Frisches Hundeblut, am Tag zuvor entnommen.

| | Entwickelte Gasmenge in % des Blutvolumens, red. 0° 760 mm ohne Berücksichtigung der physikalischen Absorption |
|--|--|
| Probe I: Luftsättigung . . . | 21,58 % O ₂ |
| Probe II: Sättigung mit reinem Kohlenoxyd, durch Umgiessen u. Umschütteln vom physikalisch absorbierten Kohlenoxyd zum grössten Teil befreit | 21,68 % CO |

Die Reaktion mit Kohlenoxyd geht viel langsamer vor sich als mit Sauerstoff. Es ist deshalb nicht leicht das Ende der Gasentwicklung mit derselben Sicherheit wie bei diesem festzustellen. Wenn man daher mit Rücksicht auf die immer zu befürchtende O₂-Zehrung wünscht, die Ferricyankalium-Reaktion an mit Kohlenoxyd gesättigtem Blut durchzuführen, wo diese Zehrung natürlich nur an dem beim Schütteln nachträglich aufgenommenen Luftsauerstoff bemerklich wird und daher also viel geringer ist, so muss man diesen Übelstand mit in den Kauf nehmen.

Sauerstoffbestimmung in unvollkommen gesättigtem, defibriniertem Blut.

Bei Verwendung von Blut, das mit irgendeinem sauerstoffarmen Gasgemisch in Spannungsausgleich gesetzt worden ist, bediente ich mich der von A. Loewy und N. Zuntz¹⁾ kürzlich angegebenen Methodik. Das Blut wurde, genau wie es dort für die Einfüllung in die Blutgaspumpe angegeben, hier in die Blutkugel vermittelt der Schwanzhahnbohrung eingefüllt (Fig. 4). Dabei könnte man befürchten, dass etwa mit Stickstoff geschütteltes, also nur zu etwa 50 % oder weniger mit Sauerstoff gesättigtes Blut während des Einfüllens infolge Berührung der Blutoberfläche mit der Luft aus ihr Sauerstoff aufnimmt. Wie aber Untersuchungen von Geppert ergeben haben, ist diese Befürchtung unnötig. Der Gasaustausch tritt nicht so schnell ein (die Einfüllung dauert höchstens eine Minute),

1) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt. 1904 S. 170.

und ausserdem wurde noch der Vorsicht halber die oberste Schicht durch die Kapillare 7 hindurch herausgetrieben.

War die Sättigung des Blutes bei Körpertemperatur erfolgt und dementsprechend körperwarmes Blut eingefüllt, so musste eine Korrektur des Kaliberwertes der Blutkugel 2 stattfinden, da der Kaliberwert nicht für Körpertemperatur, sondern für mittlere Temperatur (etwa 15°) gilt. Diese Korrektur wurde auf zwei Arten festgestellt:

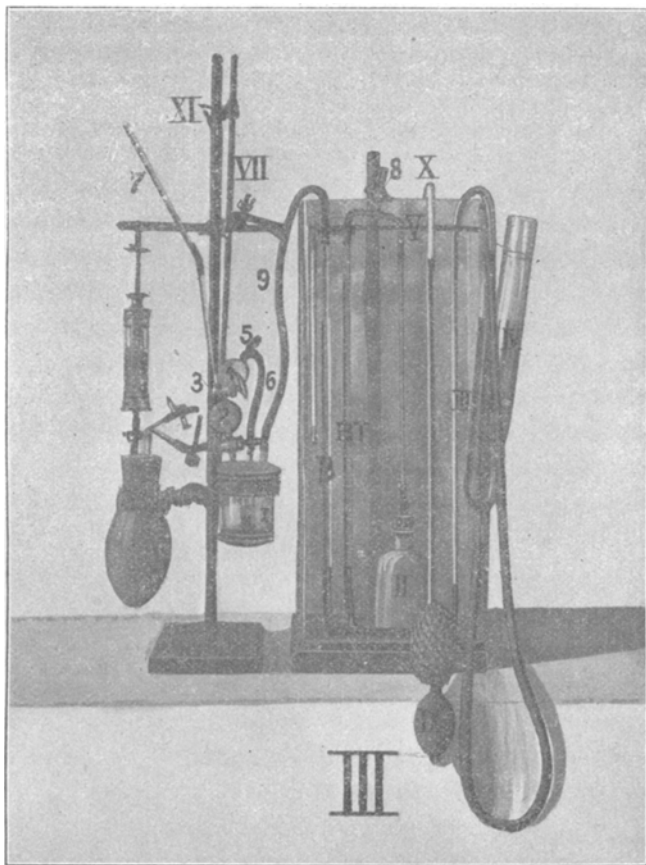


Fig. 4.

1. Die Kapillare 7 ist, wie oben erwähnt, mit einer Millimeterteilung versehen. Der Wert pro Zentimeter ergab, mit Quecksilber auskalibriert, 0,0093 ccm. Es wurde nun der Kugelaufsatz des Apparates mit 38° warmem Blut bis in die Kapillare hinein gefüllt und in 38° warmes Wasser gesetzt, darauf die Kontraktion des Blutes an der Änderung des Standes in der Kapillare bei sinkender Wassertemperatur abgelesen und unter Zugrundelegung der

Kalibrierung daraus eine Kurve konstruiert. Die beim Sinken von 38° auf 15° konstatierte Kontraktion betrug 0,135 ccm.

2. Zur Kontrolle, dass diese Kontraktion auch bei den Versuchsbedingungen der Sauerstoffanalyse gültig ist, wurde der Apparat, wie üblich, mit 30 ccm Ammoniaklösung, aber nicht mit Ferricyanalkalium beschickt. Bei leerer Kugel 2 und einer Wassertemperatur von ca. 15° wurde weiter das Wasserniveau in Bürette *B* wie üblich eingestellt und abgelesen, sodann das Schüttelgefäß nebst Aufsatz nach Abklemmung des Schlauches 9 in Wasser von 38° versenkt, darin zehn Minuten belassen und 38° warmes defibriniertes Blut in Kugel 2 eingefüllt. Es zeigte sich bald am Stand der Kapillare, dass das Blutvolumen konstant blieb. Darauf wurde das Blut in das Schüttelgefäß *I* eingelassen, lackfarben gemacht, dann das Gefäß in kaltes Wasser gesteckt und die Verbindung mit der Bürette *B* wiederhergestellt. Es ergab sich bei einem Kaliber der Kugel von 21,221 ccm eine Kontraktion von 0,14 ccm, also fast genau so viel wie bei der exakten Kalibrierung. Mit Hilfe der zuvor erwähnten Kurve ist es nun leicht möglich, für jede beliebige Bluttemperatur die Kontraktion des Blutvolums bzw. die Kaliberkorrektur zu bestimmen. Dabei kann für 38° warmes Blut, wenn die Einfüllung 1—1½ Minuten dauert, auf Grund von daraufhin angestellten Versuchen angenommen werden, dass das Blut nach vollkommener Füllung der Kugel bei einer Aussentemperatur von 12 — 20° eine Temperatur von 25,5 bis 27° hat. Um einen Begriff von dem durch diese Korrektur etwa bedingten Fehler zu geben, ist im Anhang eine vollkommen durchgeführte Berechnung eines derartigen Versuchs gegeben.

Vergleich zwischen Blutgaspumpe und Apparat.

Nachdem die vorstehenden Analysen ergeben hatten, dass die Ferricyanalkalium-Reaktion beim gleichen Blut nach Luftschüttelung die gleichen Sauerstoffmengen in Freiheit setzt, musste es als wichtigste Aufgabe erscheinen, nachzuweisen, dass die entwickelte Sauerstoffmenge auch tatsächlich der vom Blut locker gebundenen gleichkommt. Während nämlich die nachstehenden Analysen von Haldane in diesem Sinne sprechen, haben Hüfner und v. Zeynek, wie erwähnt, im besten Fall nur ungefähr 88 % der berechneten Menge gefunden, die auf Grund der spektrophotometrischen Konzentrationsbestimmung in der Oxyhämoglobinlösung enthalten sein sollte.

Während Haldane die Resultate der Gaspumpe als massgebend zugrunde legt, vergleichen Hüfner und v. Zeynek die pro Gramm Hämoglobin durch Ferricyankalium entwickelte Menge Sauerstoff mit einer theoretisch als wahrscheinlich berechneten Zahl. (Näheres s. später.)

Haldane fand (Journ. of Physiol. vol. 25 p. 295. 1900) unter der Annahme, dass der Absorptionscoefficient des Sauerstoffs für Blut um $\frac{1}{6}$ kleiner ist als für Wasser, und dementsprechendem Abzug der physikalisch absorbierten Menge von dem bei Entgasung in der Pumpe erhaltenen Wert:

| | Mit seinem Apparat Sauerstoff in % des Blut- volumens | Mit der Pumpe Sauerstoff in % des Blut- volumens |
|--------|---|--|
| I. { | 24,43 | { 24,38 |
| | 24,35 | |
| II. { | 20,47 | { 20,36 |
| | 20,57 | |
| III. { | 22,20 | { 22,40 |
| | 22,33 | |

Wenn nun auch gegen die Exaktheit der Haldane'schen Gaspumpenversuche durchaus kein Einwand zu erheben ist, so genügten doch diese Daten noch nicht, um einer allgemein zu empfehlenden Methode als Grundlage zu dienen. Haldane selbst hat sich in seiner ersten diesbezüglichen Publikation hinsichtlich der Anwendbarkeit der Ferricyanidmethode (Journ. of Physiol. vol. 22, 1898) sehr vorsichtig ausgedrückt: „With a first rate pump and accurate methods of gasanalysis more even results can be obtained, but for many purposes the present method will probably be preferred.“ In der späteren Arbeit, 1900, sagt er, dass die Ferricyanidmethode „exakte Resultate“ liefert. Sie wird dementsprechend auch in England vielfach angewendet, in letzter Zeit sogar mit 1 ccm Blut, so dass das Resultat mit 100 multipliziert, die Prozentzahl ergibt.

Meiner Ansicht nach mussten noch zahlreichere Parallelversuche angestellt und etwaige Fehler der Methode klargestellt werden, wenn man ihr eine weite Verbreitung schaffen wollte.

Bei den Versuchen wurde so vorgegangen, dass nach Art der von A. Loewy und N. Zuntz geschilderten Methodik frisches, defibriniertes Blut bei bestimmter Temperatur im Tonometer (siehe Fig. 4) bis zum vollkommenen Gasausgleich geschüttelt und dann

schnell hintereinander die Blutprobe für die Blutgasanalyse, die Gasprobe für die Analyse des Schüttelgases, sowie die Blutprobe zur Bestimmung in unserem Apparat entnommen wurden. Diese Füllungen dauerten im ganzen höchstens drei bis vier Minuten. Die Zeit, während welcher nun das Blutrohr mit der Pumpe verbunden und der letzte Luftrest ausgepumpt wurde, benutzte ich, um das in der Blutkugel befindliche und wieder in Wasser versenkte Blut sich abkühlen zu lassen. So konnte die Kaliberkorrektur vermieden werden, dagegen war die Gefahr der Zehrung grösser. Nach Verlauf dieser fünf Minuten wurde die Mischung und Entgasung bewerkstelligt. Im allgemeinen wurde so das Blut in Pumpe und Apparat ganz gleichzeitig entgast. Die Analyse der Blutgase in Versuch I—VII¹⁾ (siehe folgende Tab. II S. 556—559) sowie die aller Schüttelgase wurde in dem von A. Loewy beschriebenen Apparat²⁾, die der Blutgase von VIII—XII nach Bunsen-Geppert ausgeführt.

In Tabelle II sind alle so erhaltenen Zahlen ausnahmslos aufgenommen. Die Werte, bei denen sich sicher Fehler eingeschlichen haben — sei es, dass einmal der Apparat nicht dicht schloss oder, wie dies ja leider öfters vorkommt, zu viel Luft während der Entgasung in die Pumpe eingedrungen war —, sind eingeklammert. Von den Analysen in der Blutgaspumpe sind **natürlich ohne Rücksicht auf das Resultat** nur die berücksichtigt, bei denen der eingedrungene Luftsauerstoff unter 2 % des Blutvolumens betrug. Bezüglich der Berechnung, insbesondere der physikalisch absorbierten Gasmengen, sei auf Loewy und Zuntz's letzte Mittheilung sowie die im Anhang dieser Arbeit gegebenen Beispiele verwiesen.

Überblickt man das Resultat der Analysen, so erscheint zunächst bemerkenswert, dass die maximalen Differenzen von Parallelversuchen bei der Ferricyankaliumreaktion geringer waren als bei der Gaspumpe.

| Zahl der Parallelbestimmungen | Versuchsnummer | Maximale Differenz in Prozent des Blutvolumens | | Maximale Differenz in Prozent des mittleren O ₂ -Gehalts | |
|-------------------------------|----------------|--|-----------------|---|-----------------|
| | | Pumpe | Ferricyankalium | Pumpe | Ferricyankalium |
| 2 | II | 0,96 | 0,58 | 5,2 | 3,3 |
| 2 | VI | 0,06 | 0,01 | 0,7 | 0,1 |
| 4 bez. 5 | VII | 1,90 | 0,77 | 7,4 | 3,4 |

1) Für die Ausführung eines Theils derselben bin ich Herrn Professor A. Loewy zu lebhaftem Danke verpflichtet.

2) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1898 S. 484.

Nehmen wir die früher aufgeführten Parallelbestimmungen ohne Vergleich mit Pumpenversuchen hinzu, so ergibt sich folgendes Resultat:

| Zahl der Bestimmungen | Maximaler Fehler in Prozent des Blutvolumens | Maximaler Fehler in Prozent des mittleren O ₂ -Gehalts |
|-----------------------|--|---|
| 2 | 0,01 | 0,07 |
| 3 | 0,22 | 1,6 |
| 2 | 0,04 | 0,8 |
| 3 | 0,56 | 4,8 |
| 3 | 0,50 | 2,1 |

Demgegenüber gibt zunächst die Sauerstoffanalyse bei genauester Ausführung nach Bunsen - Geppert in Luftanalysen maximale Differenzen von 0,05 ccm, d. h. 0,25 % des O₂-Gehalts. Aus Geppert's genauesten Analysen mit kleinen Gasmengen (Mittel: 1,2552 ccm) berechnet sich im Mittel eine Abweichung von 0,185 ccm als Fehler der eigentlichen Gasanalyse. Dazu kommen die Fehler durch Sauerstoffabsorption im Schmierfett (ca. 0,13 %), durch Eindringen von Luft u. a. m., deren Gesamteffekt kaum richtig abzuschätzen ist. Jedenfalls war es mir unmöglich, darüber einen sicheren Aufschluss aus den vorliegenden Arbeiten zu erhalten¹⁾. Die beste Übereinstimmung findet sich in Pflüger's alten Versuchen²⁾ beim Vergleich von Blut aus Art. femoralis und carotis. Die Differenz betrug nur 0,1 % des Blutvolumens entsprechend 0,5—1 % des Sauerstoffvolumens. Immerhin kann man mit genügender Sicherheit behaupten, dass die Ferricyankaliummethode jedenfalls keine schlechteren Parallelwerte erzielt als die Mehrzahl der in der Literatur vorliegenden, exakt ausgeführten Gaspumpenanalysen. Was die Sauerstoffabsorption in Kupferlösung betrifft, die in Loewy's Apparat benutzt wird, so hat Durig kürzlich mitgeteilt, dass mit ihr die Analyse sehr sauerstoffreicher Gemenge unmöglich ist. Der letzte Rest muss durch Phosphorabsorption beseitigt werden. Es fehlt vorerst eine mit dem Loewy'schen Apparat ausgeführte Reihe von Analysen sauerstoffreicher Gase, so dass der Fehler dieser Methode auch schwer genau abzuschätzen ist. Jedenfalls ist sie nicht genauer als die Verpuffung nach Bunsen.

1) Geppert, Die Gasanalyse. Hirschwald's Verlag 1885. — Geppert, Pflüger's Arch. 69 S. 472.

2) Pflüger's Arch. Bd. 1 S. 286.

Tabelle II.¹⁾

| Nummer des Versuchs | | I | | II | | III | | IV | | |
|--|--|--|----------------|---------------------|--|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | |
| Datum des Versuchs . . . | | 12. Sept. 1902 | 12. Sept. 1902 | 18. Sept. 1902 | 18. Sept. 1902 | 23. Oktbr. 1902 | 23. Oktbr. 1902 | 18. Novbr. 1902 | 18. Novbr. 1902 | |
| Angewandte Blutart . . . | | Frisches Rinderblut | | Frisches Rinderblut | | Hundeblut, 1 Tag auf Eis | | Frisches Rinderblut | | |
| Aussengas | | O ₂ aus Bombe | N aus Bombe | Luft | Luft | N aus Bombe | O ₂ -armes Gemisch | N aus Bombe | N aus Bombe | |
| Schütteltemperatur in Grad | | 38,5 | 38,5 | 38,0 | 38,0 | 38,0 | 38,0 | 38,0 | 38,0 | |
| Analyse des Schüttelgases | | O ₂ % | 85,86 | 9,21 | geschätzt 19,0 | 19,0 | 5,25 | 9,00 | 5,65 | 3,79 |
| | | CO ₂ % | 3,11 | 3,64 | — | — | 2,11 | 2,00 | 3,39 | 4,20 |
| | | N % | 11,03 | 87,15 | — | — | 92,64 | 89,00 | 90,97 | 92,01 |
| Bestimmung im Apparat mit Ferrieyankalium | | a) Entwickelt. Sauerstoff ccm | 4,405 | 3,607 | 3,83 | 3,96 | 1,92 | 2,555 | 2,671 | 1,845 |
| | | b) Physikalisch absorbiert beim Versuch | 0,026 | 0,022 | 0,023 | 0,024 | 0,012 | 0,015 | 0,016 | 0,011 |
| | | c) Summe a + b | 4,431 | 3,629 | 3,853 | 3,984 | 1,932 | 2,570 | 2,687 | 1,856 |
| | | d) Reduziert 0° und 760 mm O ₂ % des Blutvolumens | 19,127 | 15,635 | 17,113 | 17,693 | 8,657 | 11,535 | 12,319 | 8,505 |
| | | e) Nicht bestimmte O ₂ -Menge, die beim Schütteln physikal. absorbiert: % | 1,668 | 0,178 | 0,377 | 0,377 | 0,105 | 0,180 | 0,114 | 0,076 |
| | | f) Summe von d + e = O ₂ % Gehalt des Blutes | 20,795 | 15,813 | 17,490 | 18,070 | 8,762 | 11,715 | 12,433 | 8,581 |
| Bestimmung in der Blutgaspumpe | | O ₂ % Gehalt des Blutes reduziert 0° und 760 mm | 20,282 | [17,166] | 17,934 | 18,890 | 10,714 | [11,69] | 12,879 | 8,279 |
| | | Fehler des Versuchs: O ₂ % aus Luft in Pumpe eingedrungen | 1,532 | 0,390 | 0,458 | 1,872 | 0,376 | Luft bei Analyse eingedrungen | 0,340 | 0,718 |
| | | CO ₂ % Gehalt des Blutes | 66,45 | 91,12 | 44,04 | 33,38 | 25,20 | 27,27 | 52,14 | 48,67 |
| Fehler des Apparats i. Vergleich zur Pumpe | | In % des Blutvolumens | + 0,51 | — | — 0,63 | | — 1,95 | — | — 0,45 | + 0,30 |
| | | In % des O ₂ -Gehalts | + 2,5 | — | — 3,5 | | — 20,4 | — | — 0,8 | |
| | | Analyse in der Pumpe ungenau, da die Blutabmessung ungenau | | | Die Pumpenanalysen wurden kurz hintereinander in derselben Pumpe gemacht, daher ist das Mittel zu nehmen | | | | | |

1) Eine genauere Erklärung der Berechnung der in dieser Tabelle enthaltenen Daten

Tabelle II.

| V | | | VI | | | | VII | | | | |
|--|---|---------------------|--|-------------------|---|-------------------|------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 |
| 7. Mai 1903 | 7. Mai 1903 | 7. Mai 1903 | 9. Mai 1903 | 9. Mai 1903 | 9. Mai 1903 | 9. Mai 1903 | 15. Mai 1903 | 15. Mai 1903 | 15. Mai 1903 | 15. Mai 1903 | 15. Mai 1903 |
| Frisches Hundeblut | | | Rinderblutkuchen, mit 0,9 % NaCl aufgeschwemmt | | Rinder- blutku- chen, ver- dünnter | | Hundeblut, ganz frisch | | | | |
| Unver- dünnt | Ver- dünnt | Stärker verdünnt | | | | | | | | | |
| Luft | Luft | Luft | Luft | Luft | Luft | Luft | Luft | | | | |
| 21,0 | 21,0 | 20,5 | 17,5 | 17,0 | 17,0 | 17,0 | 18,5 | 18,5 | 20,4 | 20,5 | 20,8 |
| geschätzt | | | geschätzt | | | | geschätzt | | | | |
| 20,0 | | | 20,0 | | | | 20,0 | | | | |
| — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 6,04 | 5,36 | 4,98 | 1,99 | 1,98 | 1,40 | 1,88 | 5,22 | 5,06 | 5,11 | — | 5,12 |
| 0,039 | 0,035 | 0,031 | 0,013 | 0,013 | 0,009 | 0,012 | 0,034 | 0,033 | 0,033 | — | 0,033 |
| 6,079 | 5,395 | 5,011 | 2,003 | 1,993 | 1,409 | 1,892 | 5,254 | 5,093 | 5,143 | — | 5,153 |
| 25,861 | 22,844 | 21,243 | 8,607 | 8,585 | 6,040 | 8,168 | 22,925 | 22,163 | 22,344 | — | 22,408 |
| 0,536 | 0,536 | 0,542 | 0,575 | 0,582 | 0,581 | 0,592 | 0,572 | 0,557 | 0,544 | — | 0,586 |
| [26,397] | 23,380 | 21,785 | 9,182 | 9,167 | 6,621 | 8,760 | 23,497 | 22,720 | 22,888 | — | 22,994 |
| Mittel 23,02 | | | | | | | | | | | |
| 24,634 | [30,388] | 20,917 | 9,341 | 9,283 | [8,033] | [9,937] | 25,496 | 25,753 | 25,902 | 26,068 | 24,158 |
| Mittel 25,48 | | | | | | | | | | | |
| 1,280 | 0,545 | 1,334 | 0,162 | 0,360 | 3,962 | 2,12 | 0,208 | 0,149 | 1,400 | 0,770 | 0,244 |
| 32,20 | 51,34 | 13,01 | 25,43 | 50,05 | 36,82 | 28,23 | 20,94 | 21,97 | 11,11 | 13,13 | 19,89 |
| — | — | + 0,86 | — 0,13 | | — | — | — 2,46 | | | | |
| — | — | + 4,0 | — 1,4 | | — | — | — 10,2 | | | | |
| Apparat schloss nicht sicher luftdicht | Analyse in Pumpe falsch, da wohl un- gleich- mässige Blut- mischung (Sedimen- tierung) | | | | | | | | | | |

folgt im Anhang S. 576 ff.

Tabelle II.

| Nummer des Versuchs | | VIII | | | IX | | | |
|--|---|------------------------|----------------------|---------------------|------------------------|---------------|---------------|-------|
| | | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | |
| Datum des Versuchs | | 10. Nov. 1903 | 10. Nov. 1903 | 10. Nov. 1903 | 24. Nov. 1903 | 24. Nov. 1903 | 24. Nov. 1903 | |
| Angewandte Blutart. | | Hundeblut, ganz frisch | | | Hundeblut, ganz frisch | | | |
| Aussengas | | Luft | N aus Bombe | Luft | Luft | N aus Bombe | Luft | |
| Schütteltemperatur in Grad . . | | 38,0 | 38,0 | 0,0 | 38,0 | 38,0 | 38,0 | |
| Analyse des Schüttelgases | | O ₂ % | 20,11 | 4,045 | 20,43 | 19,87 | 4,20 | 16,70 |
| | | CO ₂ % | 1,34 | 1,09 | — | 2,27 | 0,52 | 1,16 |
| | | N % | 78,55 | 94,87 | — | 77,86 | 95,28 | 81,14 |
| Bestimmung im Apparat mit Ferricyankalium | a) Entwickelter Sauerstoff ccm | 4,81 | 3,12 | 5,04 | 5,40 | 3,81 | — | |
| | b) Physikalisch absorbiert beim Versuch | 0,031 | 0,022 | 0,033 | 0,035 | 0,025 | — | |
| | c) Summe a + b | 4,841 | 3,142 | 5,073 | 5,435 | 3,835 | — | |
| | d) Reduziert 0° u. 760 mm O ₂ % des Blutvolumens | 21,454 | 13,925 | 22,355 | 23,813 | 16,743 | — | |
| | e) Nicht bestimmte O ₂ -Menge, die beim Schütteln physikalisch absorbiert: % | 0,395 | 0,079 | 0,898 | 0,391 | 0,082 | — | |
| | f) Summe d + e = O ₂ % Gehalt des Blutes | ^a 21,849 | ^b 14,004 | ^c 23,253 | 24,204 | 16,825 | — | |
| | Mittel a + c = 22,55 | | | | | | | |
| Bestimmung in der Blutgaspumpe | O ₂ % Gehalt des Blutes reduziert 0° und 760 mm | ^a 24,46 | ^b [15,48] | ^c 25,46 | [23,72] | 16,20 | 24,45 | |
| | | Mittel a + c = 24,96 | | | | | | |
| | Fehler des Versuchs: O ₂ % aus Luft in Pumpe eingedrungen | 0,100 | 16,44 | 0,190 | 23,01 | 0,210 | 0,72 | |
| | CO ₂ % Gehalt des Blutes | 17,53 | 23,30 | 22,23 | 45,64 | 44,75 | 34,89 | |
| Fehler des Apparats im Vergleich zur Pumpe | { In % des Blutvolumens In % des O ₂ -Gehalts | — 2,41 | | | — | + 0,62 | — 0,25 | |
| | | — 10,2 | | | — | + 3,7 | — 1,0 | |

Tabelle II.

| IX | | X | | | | XI | | XII | |
|---------------------------|------------------|------------------------|--|------------------------|-----------------------|---|-----------------------|---|--|
| 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 |
| 24. Nov. 1903 | 24. Nov. 1903 | 10. Dez. 1903 | 10. Dez. 1903 | 10. Dez. 1903 | 10. Dez. 1903 | 14. Jan. 1904 | 14. Jan. 1904 | 25. Febr. 1904 | 25. Febr. 1904 |
| Hundeblut, ganz frisch | | Hundeblut, ganz frisch | | | | Pferdehämo- globinkristalle, gereinigt, in Soda gelöst | | Hundeblut, vom 24. Februar 1904 auf Eis aufbe- wahrt | |
| N aus Bombe 0,0 | Luft 0,0 | Luft 38,0 | Luft 0,0 | N aus Bombe 38,0 | N aus Bombe 0,0 | Luft 0,0 | N aus Bombe 0,0 | N mit wenig CO ₂ 38,0 | N mit mehr CO ₂ 38,0 |
| 3,40 | 12,94 | 19,75 | 18,46 | 3,16 | 4,49 | 20,66 | 2,968 | 4,015 | 4,402 |
| 0,27 | 0,45 | 1,80 | 0,46 | 2,87 | 0,48 | 0,07 | — | 1,773 | 5,046 |
| 96,23 | 86,60 | 78,45 | 81,08 | 93,97 | 95,03 | 79,27 | — | 94,212 | 90,552 |
| 5,66 | 5,30 | 3,91 | 4,83 | 2,16 | 3,95 | 4,53 | 4,45 | 3,01 | 2,52 |
| 0,037 | 0,034 | 0,025 | 0,031 | 0,014 | 0,026 | 0,029 | 0,029 | 0,022 | 0,016 |
| 5,697 | 5,334 | 3,935 | 4,861 | 2,174 | 3,976 | 4,559 | 4,479 | 3,032 | 2,536 |
| 24,923 | 23,316 | 17,168 | 20,993 | 9,437 | 17,155 | 19,264 | 18,943 | 13,467 | 11,218 |
| 0,150 | 0,569 | 0,385 | 0,804 | 0,062 | 0,195 | 0,881 | 0,127 | 0,080 | 0,087 |
| 25,073 | 23,885 | 17,553 | [21,797] | [9,499] | [17,35] | 20,145 | 19,070 | 13,547 | 11,305 |
| | | | | | | Mittel 19,60 | | | |
| — | [24,62] | [18,68] | 19,60 | 11,82 | 18,64 | 20,11 | 19,57 | [12,60] | 12,03 |
| | | | | | | Mittel 19,84 | | | |
| — | 6,67 | 16,74 | 0,22 | 0,19 | 0,43 | | | 2,16 | 0,25 |
| — | 42,36 | 37,39 | 45,80 | 38,65 | 43,05 | | | 13,26 | 47,90 |
| — | — | — | — | — | — | — 0,24 | | — | — 0,73 |
| — | — | — | — | — | — | — 1,2 | | — | — 6,3 |
| | | | 3 Analysen im Apparat unsicher, da er nicht sicher luftdicht schloss | | | | | | |

Vergleichen wir nun Ferricyankaliummethode und Pumpenanalyse bezüglich des Gesamtergebnisses an locker im Blut gebundenen Sauerstoffs, so scheint auf den ersten Blick jeder Parallelismus zu fehlen. Bei genauerer Betrachtung stellt sich das Bild aber bedeutend günstiger dar (s. Tab. II S. 556—559).

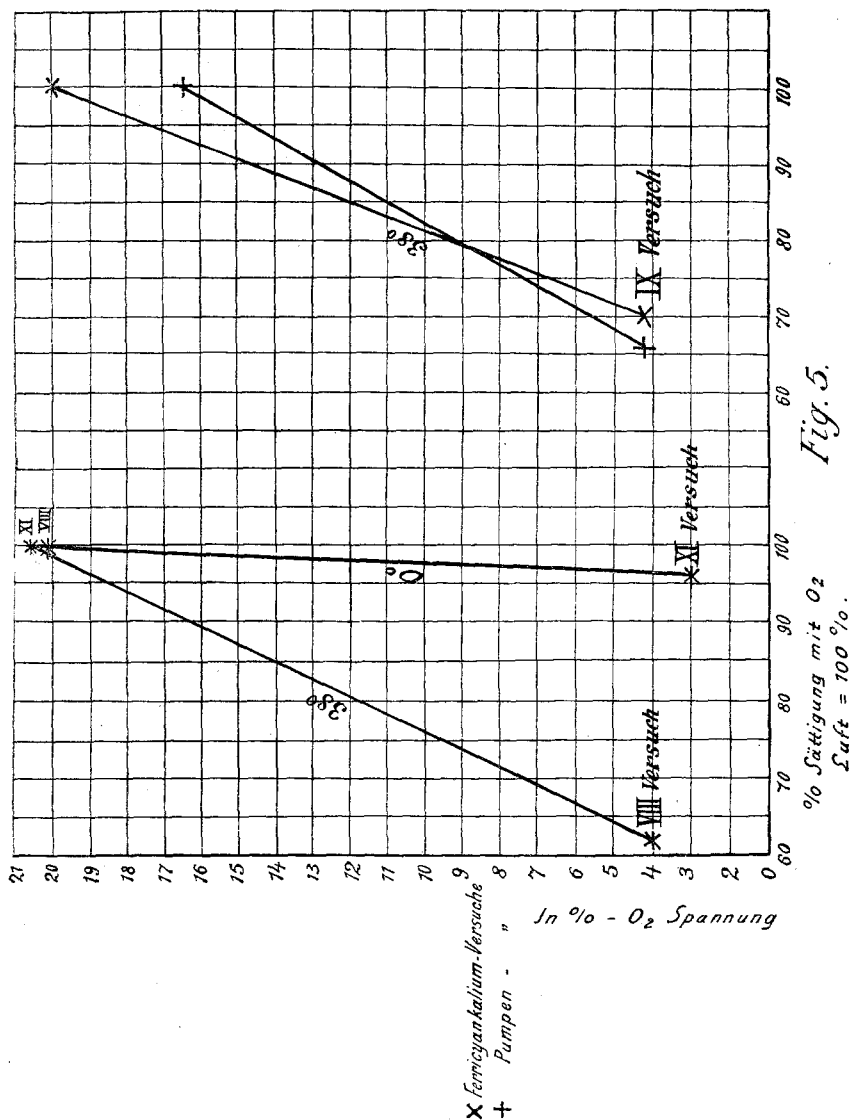
Beginnen wir mit stark voneinander abweichenden Versuchen: Es findet sich im Versuch VII und VIII *a* und *c* eine Differenz von 10 %, die mit Ferricyankalium weniger erhalten wurden, trotz der vielen gut stimmenden Parallelproben. Auch Haldane fand ähnliche Differenzen:

| Sauerstoffgehalt in Prozent des Blutvolumens mit Ferricyankalium | | | Sauerstoffgehalt in Prozent des Blutvolumens mit Pumpe |
|--|-------|-------|--|
| 21,11 | 20,95 | 21,14 | 21,70 |
| 18,27 | 18,47 | | 19,42 |
| 19,70 | 19,60 | | 20,31 |

Als Grund nimmt er an, dass sich Bakterien im Blut befunden hätten, auch die Pumpenresultate seien zu niedrig, aber weniger als die mit Ferricyankalium, da die alkalische Reaktion hier die Sauerstoffzehrung durch die Bakterien begünstige. Wenn diese Deutung auch für den dritten Versuch gelten mag, bei dem er einen Sauerstoffverlust von 0,05 ccm während 15 Minuten direkt verfolgte, so erscheint sie für die zwei ersten Versuche zum mindesten unbewiesen. Für unsere Versuche kann sie aber vollends nicht gelten, da im Versuch VII und VIII Blut benutzt wurde, das eine Stunde zuvor dem Hunde (natürlich ohne Verunreinigung) entnommen war. Es ist auch nicht recht zu verstehen, warum bei jeder Probe die gleiche Menge Sauerstoff von Bakterien verbraucht sein soll, wo doch bei mir wenigstens die Analyse verschieden lange Zeit dauerte. Eher kann diese Erklärung für meinen Versuch III (Nr. 5) stimmen, bei der die Differenz 20 % zu Ungunsten unserer Methode beträgt. Hier war das Blut, 24 Stunden zuvor entnommen, allerdings fast die ganze Zeit über auf Eis aufbewahrt worden. Auf eine genauere Erklärung soll bald näher eingegangen werden (S. 570).

Diesen drei differierenden Versuchen stehen die Mehrzahl der Versuche gegenüber, in denen Pumpe und Ferricyankalium befriedigend übereinstimmende Sauerstoffwerte lieferten. (Versuch: I, II, IV, V, VI, IX, XI, XII.)

Die Ferricyanidmethode liefert danach in der Regel Sauerstoffzahlen, die den mittelst Auspumpens



gewonnenen entsprechen. Es kommen aber Abweichungen von der Regel vor.

Für die Richtigkeit unserer Methode spricht nun weiter, dass die nach Versuch VIII, IX und XI berechnete Dissoziationskurve bei den Bestimmungen nach beiden Methoden ganz gleich verläuft

Tabelle III.

| Versuchs- reihe | Datum d. Versuchs 1903 | Blutart | Art der Behandlung | Bei 0 ° C. mit Luft geschüttelt | Bemerkungen über die Versuchs- anordnung |
|--------------------|------------------------------|---------|--|---------------------------------------|--|
| 1 | 13. Jan. | Hund | Blut direkt aus Art. carotis | — | Terrier 6000 g; Kanüle in Karotis ohne Narkose. T-Leitung zum Apparat und zu zwei mit Queck- silber gefüllten, im Niveau des Apparats stehenden Kugeln. Gleichzeitige Füllung, Defibrinieren ohne Luftzutritt durch Schütteln mit Quecksilber |
| | 13. " | " | Dasselbe nach 2 Stunden | — | |
| | 13. " | " | Dasselbe mit Luft geschüttelt | 14 | |
| 2 | 17. " | " | Blut direkt aus Art. femoralis | — | Versuchsanordnung ebenso |
| | 17. " | " | Dasselbe nach 2 Stunden | — | Blut stand bei — 5° : 1½ Stdn., dann bei 16° |
| | 19. " | " | Dasselbe mit Luft gesättigt | 14 | Blutstand über Quecksilber bei 0° bis 19. Januar 1903 |
| | 19. " | " | Dasselbe mit Luft gesättigt | 14 | Statt Ferricyankalium: 5 ccm 10 % ige NaNO ₂ -Lösung |
| 3 | 22. " a) | " | Blut direkt aus Art. femoralis | — | Teckel 12880 g; Versuchsanord- nung wie oben. Blut in 3 kom- munizierenden Röhren über Queck- silber aufgefangen, defibriniert durch Schütteln, stand 2 Stdn. bei + 7°. Spez. Gewicht 1063,5 |
| | 22. " b) | " | Dasselbe nach 2½ Stunden | — | |
| | 24. " c) | " | Dasselbe nach 2 Tagen | — | Bei + 6° gestanden über Queck- silber |
| | 22. " d) | " | Mit Luft 5 Stdn. nach Entnahme geschüttelt | 15 | Dasselbe |
| | 23. " e) | " | Mit Luft 1 Tag nach Entnahme geschüttelt | 15 | Dasselbe |
| | 24. " f) | " | Mit Luft 2 Tage nach Entnahme geschüttelt | 15 | Dasselbe |
| | 23. " g) | " | Mit reinem Kohlenoxyd ge- sättigt 1 Tag nach Entnahme | Mit CO 15 | Dasselbe |
| | 24. " h) | " | Dasselbe 2 Tage nach Entnahme | 15 | Dasselbe |
| | 16. Febr. i) | " | Blut riecht faulig; mit Leuchtgas ge- sättigt u. an Luft umgegossen | — | Keine physikalische Absorption ¹⁾ |
| | 37. " k) | " | Dasselbe mit Luft; vor Versuch mit Leuchtgas ge- sättigt | — | Keine physikalische Absorption ¹⁾ |
| | 18. " l) | " | Dasselbe m. Sauer- stoff gesättigt | Mit O ₂ 15 | Riecht faulig |

1) Bemerkungen S. 542 oben.

Tabelle III.

| Sauerstoffgehalt in % gefunden | Physikalisch ab- sorbiert in Blut : O ₂ % | Gesamt- sauerstoffgehalt in % | Bemerkungen |
|--|--|-------------------------------------|--|
| 7,388 | 0,320 (38°) | 7,708 | Zu 95,8% gesättigt (Vergleich mit Luftsättigung) |
| 6,406 | — | — | Bei Temp. — 2° : 1½ Stdn. Zehrung: 0,982 = 13,3 % des O ₂ -Volumens |
| 7,418 | 0,625 (14°) | 8,043 | Maximale Sättigung mit Luft |
| 12,376 | 0,323 (38°) | 12,699 | |
| 8,229 | — | — | Zehrung 4,147 = 33,5 % des O ₂ -Volumens |
| 10,418 | 0,623 (14°) | 11,041 | |
| Fast keine Gas- entwicklung | — | — | |
| 20,902 | 0,319 (38°) | 21,221 | Zu 91,1% gesättigt (Vergleich mit Luftsättigung) |
| 21,044 | — | — | Keine Zehrung nachweisbar |
| 19,708 | — | — | Zehrung 1,194 = 5,7 % des O ₂ -Volumens |
| 22,677 | 0,617 (15°) | 23,294 | Maximale Sättigung mit Luft |
| 20,945 | 0,611 (15°) | 21,556 | Dasselbe am folgenden Tage |
| 20,778 | 0,615 (15°) | 21,393 | Dasselbe am zweiten Tage |
| 23,015 — 0,40 = 22,615 22,811 — 0,40 = 22,411 20,58 CO | CO 2,289 (15°) CO 2,289 (15°) ? ? | 24,904 CO 24,700 CO — | Nach Sättigung mit CO direkt in den Apparat geleitet, also maximale physikalische Absorption Dasselbe |
| 18,94 CO | ? | — | |
| 14,811 | 3,110 | 17,92 | |

2) S. Anmerkung 2 S. 565.

(Fig. 5). Wenn wir im vorstehenden Diagramm (S. 561) als Abszisse die prozentuale Sauerstoffsättigung bezogen auf Luft = 100 % auftragen und als Ordinate die Sauerstoffspannung der Schüttelluft in Prozenten, so zeigt die Kurve Werte, die durchaus mit den Bestimmungen von Loewy und Zuntz übereinstimmen. Wir finden im Versuch VIII bei 4 % Sauerstoffgehalt des Aussengases 62 % Sättigung und in Versuch IX bei 4,2 % nach unserer Methode 70, mit der Pumpe 66 % Sättigung (beide Male bei 38 ° geschüttelt). Die Werte von Loewy liegen auch zwischen 60 und 70 %. (Dies Resultat spricht übrigens auch dagegen, dass Bakterien im Blut das Resultat beeinflussen haben.) Die Dissoziationskurve des Versuches XI, die für Sättigung bei 0 ° gilt, verläuft viel steiler. Auch hier stimmen beide Methoden genau überein, indem beide bei 3 % Sauerstoffgehalt der Aussenluft eine Sättigung von 96 % ergaben. Man wird zugeben müssen, dass diese mehrfache Übereinstimmung unmöglich auf einem Zufall beruhen kann.

V. Resultate an frischem, nicht defibrinierten Blut.

Mit unserem Apparat ist es weiterhin möglich, Sauerstoffbestimmungen in nicht defibriniertem, frischem Blut vorzunehmen, das direkt vom Tier aus in die Blutkugel 2 einströmt. Auch diese Versuche werden zeigen, dass die Methode durchaus brauchbare Werte liefert. In vorstehender Tabelle III sind drei Versuchsreihen verzeichnet, bei denen so vorgegangen wurde, dass das der Arterie des Tieres entströmende Blut durch eine T-Leitung teils zum Apparat, teils in luftfrei mit Quecksilber gefüllte Auffangeröhren floss, deren Niveau dem der Blutkugel entsprach. Beim Einlaufen wurde beiderseits möglichst das gleiche Tempo eingehalten. Das Blut wurde in den Röhren ohne Luftzutritt durch Schütteln mit Quecksilber defibriniert und bis zum Gebrauch über Quecksilber aufbewahrt.

Indem ich bezüglich der Einzelheiten auf das am Ende der Arbeit gegebene Protokoll verweise, sollen hier nur die Resultate wiedergegeben werden (Tabelle III S. 562 und 563). Was zunächst die **Sauerstoffsättigung im arteriellen Blut** betrifft, verglichen mit der maximalen beim Schütteln mit Luft aufgenommenen Gasmenge, so stellte sie sich bei dem ersten der drei Versuche auf 95,8 %, bei dem dritten auf 91,1 %; bei dem zweiten konnte sie nicht berechnet werden, da die entsprechende Vergleichsprobe ver-

loren ging. Die Zahlen erscheinen im Vergleich zu denen im Pflüger'schen Laboratorium sowie von Geppert und Zuntz, Filehne und Kionka¹⁾ mit Hilfe der Blutgaspumpe gefundenen durchaus plausibel.

Sodann wurde die **Zehrung** bestimmt, die sich nach Verlassen des Körpers ohne Luftzutritt bemerkbar macht. Es zeigten sich hier durchaus in Übereinstimmung mit den bekannten Beobachtungen von Pflüger sehr erhebliche Differenzen, und zwar im ersten Versuch nach $1\frac{1}{2}$ Stunden Stehen bei -2° C. 13,3 %, im zweiten nach $1\frac{1}{2}$ stündigem Stehen bei -5° C. und $\frac{1}{2}$ Stunde bei etwa $+15^{\circ}$ C. 33,5 % Verlust, im dritten nach $1\frac{1}{2}$ stündigem Stehen bei $+7^{\circ}$ gar keine Abnahme und noch nach zweitägiger Aufbewahrung bei $+6^{\circ}$ C. nur 5,7 % Abnahme des Sauerstoffvolumens, wenn der Sauerstoffgehalt des frischen arteriellen Blutes mit dem des ohne Luftzutritt defibrinierten, das während der Dauer des ersten Versuches in der Kälte aufbewahrt war, verglichen wurde. (Hierbei kommt natürlich, da das Blut dauernd von der Luft abgesperrt bleibt, die verschiedene Absorption bei Körpertemperatur und bei der Zimmertemperatur nicht in Betracht.) Auch dieses Resultat spricht für die Richtigkeit der Werte unseres Apparates.

Weiter ergeben Bestimmungen der **maximalen Sättigung** in demselben Blut nach längerem Verweilen ausserhalb des Körpers bei **Luftschüttelung** durchaus verständliche Abnahmen in Sauerstoffaufnahme. Wie eingangs erwähnt, kommt es gerade bei unserer Methode sehr darauf an, dass man frisches Blut anwendet, da die Fäulnis beim Stehen desselben selbst in der Kälte in nicht übersehbarer Weise mehr oder minder schnell fortschreitet. Der Vergleich der maximalen locker chemisch gebundenen Sauerstoffmengen bei Luftschüttelung mit den entsprechenden Kohlenoxydmengen zeigt in Probe *d* bez. *g* und *h* der letzten der drei Versuchsreihen am frischen Blut eine Aufnahme von im Mittel 22,5 % Kohlenoxyd²⁾, gegenüber 22,7 % Sauerstoff, also ebenso gute Übereinstimmung wie in dem S. 550 an-

1) A. Ewald, Pflüger's Arch. Bd. 7. — Geppert und Zuntz, Pflüger's Arch. Bd. 42 (z. B. Versuch XVII: 95 %, und Tabelle XXIV: Mittel 96—97 %). — Kionka und Filehne, Pflüger's Arch. Bd. 62.

2) Bezüglich der Berechnung der physikalisch absorbierten CO-Mengen sei bemerkt, dass für 15° (nach Winkler) der Absorptionskoeffizient für Wasser bei $\text{CO} = 0,02543$, der Absorptionskoeffizient für Wasser bei $\frac{4}{5}\text{N} + \frac{1}{5}\text{O} = 0,02078$ beträgt. Es werden also bei Schütteln eines mit CO gesättigten Wassers in reiner

geführten Versuch. Die Versuche *i* und *k* mit Leuchtgassättigung konnten dagegen keine exakten Resultate geben, da die absoluten, im Apparat abgegebenen Gasmengen zu unsicher bestimmbar waren. Beim Umgiessen des Blutes vor Einfüllen in den Apparat wurde zwar die Hauptmenge des physikalisch absorbierten Gases gegen Luft ausgetauscht, aber sicher auch schon etwas an Hämoglobin chemisch gebundenes Kohlenoxyd, welches letzteres allerdings keinen Fehler bedingen durfte, sofern das Blut frisch war. Es war aber, wie aus der Tabelle hervorgeht, schon faulig. Wenn weiterhin bei dem nach langem Stehen faulig gewordenen, in Zersetzung befindlichen Blut die Kohlenoxydbindung (es wurde, da es auf die exakten Zahlen nicht ankam, mit Leuchtgas gesättigt) ebenso wie die Sauerstoffbindung herabgeht, so ist das durchaus verständlich.

VI. Kritik der Methode.

Nachdem somit die Ferricyanidmethode in unseren Versuchen bei defibriniertem wie nicht defibriniertem Blut brauchbare Resultate geliefert hat, fragt es sich nun, ob wir für die anscheinend schlechteren Resultate von Hüfner und v. Zeynek eine Erklärung finden können.

Hüfner hatte 1894¹⁾ unter Korrektur früherer, schwankender Werte von ihm selbst, als maximale durch 1 g Hämoglobin gebundene Kohlenoxydmenge 1,34 ccm im Mittel aus zahlreichen Versuchen gefunden. (Minimum 1,29, Maximum 1,358 ccm.) Die Blut-

Luft in Freiheit gesetzt 0,00456 d. h. pro 100:0,465 ccm. In unserem Fall enthielt die Luft im Apparat nach der Ferricyankaliumwirkung 3 % CO.

$$\begin{array}{rcl} \text{Also sind} & & 0,465 \\ & - \frac{1}{80} = & \underline{0,015} \\ & & 0,45 \text{ \% zu viel abgelesen.} \end{array}$$

Ferner ist es kein Wasser, sondern Blutlösung, wo die Absorption etwa um 10 % niedriger ist, also sind 0,40 ccm CO auf 100 ccm Blut zu viel abgelesen. Die Aufnahme von CO aus der 3 % igen Mischung durch Wasser und Ferricyankalium (34 ccm) beträgt dem gegenüber 0,005 ccm, ist also zu vernachlässigen. Gefunden wurde 23,015 bez. 22,811 % CO; es sind also chemisch gebunden: 22,615 bez. 22,411 %. Für Berechnung des Gesamtkohlenoxydgehaltes sind zu addieren: 2,543—10 % = 2,289 ccm auf 100 ccm Blut, die bei Sättigung mit CO physikalisch im Blut absorbiert wurden und durch Ferricyankalium nicht in Freiheit gesetzt werden.

1) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt. 1894 S. 130.

lösungen waren mit reinem Kohlenoxyd gesättigt, das Kohlenoxyd wurde durch Stickoxyd ausgetrieben und dann nach Entfernung des Stickoxyds aus dem Gasgemisch nach Bunsen durch die Kohlensäurebildung bei Verpuffung mit Sauerstoff bestimmt. Die Hämoglobinkonzentration ergab sich erstens aus spektrophotometrischen Messungen, deren Grundlage die Annahme ist, dass für unverdorbenes Oxyhämoglobin bezw. Blut das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten in zwei bestimmten Spektralregionen für die bestimmte Tierart eine konstante Zahl ist. Änderungen im Verhältnis beweisen, dass entweder reduziertes oder Methämoglobin neben Oxyhämoglobin vorhanden ist. Zweitens berechnete sich aus den Eisenbestimmungen der Hämoglobinslösungen (0,336% Fe), dem Molekulargewicht des Hämoglobins (16669) unter der Voraussetzung, dass 1 Molekül Kohlenoxydhämoglobin genau 1 Molekül CO enthält $\frac{28}{16669} = 0,001679$ g CO als maximal gebundene Menge = 1,34 ccm CO bei 0° C. und 760 mm.

1903 hat Hüfner¹⁾ dann durch Entwicklung des Kohlenoxyds aus Kohlenoxydblut mit Ferricyankalium nach Haldane in mehreren Versuchen dieselbe Zahl gefunden, aber nicht in allen. Findet er weniger (1,32 oder 1,31), so nimmt er an, dass das Blut nicht mehr frisch ist. Auffallend sind die Beobachtungen, dass Blut, welches am Vormittag 1,32 resp. 1,31 ccm lieferte, am Nachmittag, obwohl es in Eis aufbewahrt war, nur noch 1,264 resp. 1,28 ccm CO pro Gramm Hämoglobin abgab. Die Hämoglobinkonzentration war auch hier spektrophotometrisch bestimmt.

In den uns besonders interessierenden Versuchen von Hüfner und von Zeynek aus dem Jahr 1899 wurden in den massgebenden, einwandfreien Proben Lösungen von mit Alkoholzusatz hergestellten Oxyhämoglobinkristallen in 0,1—0,2% Soda durch Ferricyankalium ihres Sauerstoffs beraubt und die Volumzunahme des Gases aufs exakteste bestimmt. Die Bestimmung der Hämoglobinkonzentration geschah wiederum spektrophotometrisch. Im Mittel nun band 1 g Hämoglobin nur 1,108 ccm Sauerstoff (Versuch v. Zeynek VI bis VIII, X und XI, Hüfner II—VII: Minimum 1,0096, Maximum 1,176), während entsprechend der CO-Bindung: 1,34 ccm O₂ zu erwarten waren. v. Zeynek und Hüfner mussten also zu dem Schluss kommen, dass der Sauerstoff des Hämoglobins durch Ferricyankalium nicht quantitativ in Freiheit gesetzt wird.

1) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt. 1903 S. 217.

Gegen die Beweiskraft von Hüfner's Versuchen ist aber, ohne etwa dabei die bewundernswert exakte analytische Methodik irgendwie anzugreifen, mancherlei einzuwenden.

Zunächst wissen wir durch die Arbeiten von Bohr¹⁾, die Hüfner nicht anerkennt, dass die absolute Menge Sauerstoff, die bei maximaler Sättigung von verschiedenen (ganz frischen) Blutlösungen pro Gramm Hämoglobin gebunden wird, keine konstante ist. Diese Tatsache geht aus zahlreichen Versuchen mit, wie mir scheint, ziemlicher Sicherheit hervor. Dabei ist es ganz gleich, ob man mit Bohr verschiedene Hämoglobine von verschieden hohem Eisengehalt und verschiedenem maximalen Sauerstoffbindungsvermögen annimmt, oder nur ein Hämoglobin anerkennt. Sieht man erst einmal von dem Dogma der Maximalbindung = 1,34 ccm pro Gramm ab und überblickt die älteren und neuen Versuche von Hüfner selbst resp. von v. Zeynek, so stellt sich heraus, dass auch bei ihnen 1 g Hämoglobin in sonst einwandfreien Versuchen oft mehr, oft weniger Sauerstoff band. Besonders merkwürdig erscheint, dass in den Versuchen II—V v. Zeynek's, die mit Lösungen von Blutkörperchen in Wasser resp. Soda angestellt sind, die Sauerstoffmenge fast genau die Hälfte beträgt (0,52—0,65 ccm), obwohl im Spektrophotometer sicher keine Verunreinigung durch Methämoglobin nachweisbar war. Diese Versuche sowohl wie andere oben erwähnte einfach zu verwerfen, wie Hüfner es getan, liegt zurzeit kein stichhaltiger Grund mehr vor, nachdem die Möglichkeit individueller Schwankungen nicht ausgeschlossen ist.

Hierzu kommt weiter das mir während nunmehr dreijähriger Arbeit am Spektrophotometer immer lebhafter werdende Bedenken, dass auch das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten bei direkt dem Tier entnommenen Blut nicht so konstant ist, wie Hüfner lehrt. Auch hier hat Hüfner alle Werte als falsch angesehen, die irgendwie erheblich von dem Wert 1,56 nach unten abweichen und sie durch Methämoglobinentstehung erklärt²⁾. Diese Erklärung erscheint aber kaum verständlich, nachdem von mir unter anderem bei zahlreichen gesunden Hunden in dem dem Ohr entnommenen Blut bei sofort und fehlerfrei angestellter Bestimmung 1,47 bis 1,49 gefunden wurden. Eine Konzentrationsbestimmung in solchem Blut mittelst Spektrophoto-

1) Skand. Arch. Bd. 3 S. 101.

2) Siehe auch Arch. f. Anat. u. Physiol. 1901 S. 187.

mers würde Hüfner als fehlerhaft bezeichnen, und doch ist es frisches, der Ader eines gesunden Tieres entnommenes Blut, so dass wir entweder die Gegenwart von Methämoglobin bei dem anscheinend normalen Tier oder erhebliche individuelle Unterschiede in den optischen Konstanten des Hämoglobins annehmen müssen. Die zweite Möglichkeit erscheint mir, wenigstens zurzeit, die wahrscheinlichere. Es soll nicht unerwähnt bleiben, dass Torup nach Zusatz von wenig Natriumbikarbonat zu wässrigen Hämoglobinlösungen vermittelst des Glan'schen Photometers ein Wandern des Punktes stärkster Absorption beobachtet hat, dass also, wie Bohr sagt, „eine unbedeutende Veränderung des Hämoglobins, welche gar keinen Einfluss hat weder auf das Molekulargewicht noch die Menge absorbierten Sauerstoffes, uns in bezug auf die Lichtabsorption einen ganz anderen Wert an die Hand geben kann“. Wechselnde Alkalimengen im Blut scheinen somit schon störend zu wirken.

Betrachtet man weiter die komplizierte Methodik der Gasanalyse, die bei der Verdrängungsmethode des Kohlenoxyds durch Stickoxyd angewendet wurde, oder die zur Bestimmung der Volumzunahme bei Ferricyankaliumentgasung erforderlich war, und vergleicht damit die demgegenüber einfache Methode der Gaspumpenversuche, die Haldane und mir als Kontrolle der Ferricyankaliumwirkung dienten, so wird man zugestehen müssen, dass diesen Versuchen bei ganz frischem Blut zum mindesten dieselbe Beweiskraft zukommt.

Fasst man das Gesagte zusammen, so muss zugegeben werden, dass zwar zurzeit die aus Hüfner's und v. Zeynek's Versuchen abgeleiteten Einwände gegen die Ferricyankaliummethode nicht völlig zu entkräften sind, dass aber andererseits die Konstanz des Sauerstoffgehalts des Hämoglobinmoleküls durchaus nicht derart über allen Zweifeln erhaben ist, um darauf eine Kritik der Methode zu gründen. Man darf wohl sagen, dass eigentlich nur solche Versuche volle Beweiskraft besitzen, in denen der Sauerstoff zugleich nach einer anderen, anerkannten Methode bestimmt wurde.

Unberücksichtigt soll bleiben, dass wir durch Bohr und neuerdings durch Loewy und Zuntz wissen, dass Blutlösungen und Hämoglobin-Kristalllösungen sich bezüglich ihres Sauerstoffbindungsvermögens sehr verschieden verhalten können. Die Differenzen treten bei Körpertemperatur viel schärfer hervor als bei Zimmertemperatur, die in den für uns massgebenden Versuchen herrschte. Wenn also auch die grosse Mehrzahl der Hüfner'schen und

v. Zeynek'schen Versuche mit Kristalllösungen gemacht ist, so kann doch die Sauerstoffaufnahme pro Gramm Hämoglobin bei Luftschüttelung nicht erheblich von der in Blutlösungen differiert haben. Hierin ist also wohl der Grund der Divergenz bei der Ferricyankaliumwirkung nicht zu suchen.

Es bliebe nun endlich noch die Erklärung für unsere zwei Versuche (V—VIII der Tabelle II), in denen mit Ferricyankalium 10 % Sauerstoff weniger als mit der Pumpe gefunden wurden, und zwar trotz sehr guter Übereinstimmung der zahlreichen Parallelbestimmungen. Wie erwähnt, hat auch Haldane ähnliche Abweichungen beobachtet.

Wir wissen nun, dass die Selbstzehrung im Blut, nach Verlassen des Gefäßes, das eine Mal einen kaum merkbaren (vergl. Versuchsreihe 3 der Tabelle III), das andere Mal einen sehr beträchtlichen Sauerstoffverlust (ebenda Versuchsreihe 2) bewirkt. Hier haben wir wieder eine individuell wechselnde Eigentümlichkeit des Blutes. Ich glaube nun, dass in einzelnen Blutarten leicht oxydable Stoffe enthalten sind, die den locker gebundenen oder sich gasförmig entwickelnden Sauerstoff in statu nascendi verbrauchen, sei es aus dem genuinen Blut, sei es bei der Ferricyankaliumwirkung und Methämoglobinbildung. Diese Stoffe sind im Blut eines anderen Individuums nicht oder in geringerer Menge enthalten. So ist dann die Verschiedenheit bei der Ferricyankaliumreaktion ein Ausdruck der Selbstzehrung. Es mag gern zugegeben werden, dass dieser Erklärungsversuch etwas durchaus Unbefriedigendes hat, solange wir diese leicht oxydablen Stoffe nicht kennen. Nicht weniger unbefriedigend ist aber Haldane's Erklärung der Abweichung durch Bakterienentwicklung bei ganz frischem, soeben entnommenem Blut (vergl. früher S. 549 und 560), sowie sind z. B. die bei der Dissoziation des Oxyhämoglobins konstatierten Differenzen. Das Wort „individuell“ maskiert auch hier unsere Unkenntnis der eigentlichen Ursache der Abweichungen, fehlerfreie Methodik vorausgesetzt. Vielleicht, dass hier mit unserem Apparat relativ leicht anzustellende Versuche an pathologischem Blut einen tieferen Einblick gestatten werden.

Während der Ausführung der vorliegenden Untersuchung haben Haldane und Barcroft¹⁾ die Ferricyankaliummethode in einem neuen, sehr kompendiösen Apparat in Anwendung gezogen, der im Prinzip dem ersten Haldane'schen Modell gleicht. Sie verwenden

1) Journ. of Physiol. vol. 28 p. 232. 1902.

jetzt aber nur 1 ccm Blut, benutzen auch ein Thermobarometergefäß, die kapillaren Büretten (mit saurem Wasser gefüllt) stehen aber nicht in einem Wassermantel. Mosso und Marro¹⁾ haben diese Methode ein wenig modifiziert, um hintereinander, ohne das Schüttelgefäß öffnen zu müssen, Sauerstoff und Kohlensäure (durch Weinsäure ausgetrieben) bestimmen zu können. Das Blut wird in einer Spritze abgemessen, eventuell direkt der Arterie entnommen, und, wenn es nicht völlig mit Sauerstoff gesättigt ist, unter die im Schüttelgefäß befindliche Ammoniaklösung geführt. Man muss zugeben, dass Haldane und Barcroft's Resultate erstaunlich gut sind, in Anbetracht des Fehlermultiplikators von 100 (gegenüber etwa fünf in unserem Apparat). Sie warnen aber ausdrücklich vor Irrtümern durch Temperaturdifferenzen und nicht ganz reine Reagentien. Auch müssen die kapillaren Büretten peinlichst sauber gehalten werden, um sichere Ablesungen zu gewährleisten.

Zugegeben, dass der neue Haldane-Barcroft'sche Apparat bei konstanter Umgebungstemperatur in der Hand sehr geübter Arbeiter kaum schlechtere Resultate liefert als die Gaspumpe, so scheint mir doch seine Anwendbarkeit eine beschränkte zu sein. Ich möchte Durig²⁾ darin vollkommen beistimmen, dass die oft so bedeutenden Fehler bei gasanalytischen Messungen meist mehr von der Art des Arbeitens als von der Methode abhängen und nur durch grosse Übung verringert werden können. Deshalb scheint mir der in vorliegender Arbeit beschriebene Apparat weitaus geeigneter zur allgemeinen Verwendung, da er eine viel geringere Übung erfordert. Der Nachteil, den die erforderliche grössere Blutmenge (ca. 20 ccm) mit sich bringt, ist bei grösseren Tieren dadurch, dass man sich über die durch diese Blutentnahme allein bedingte Änderung in der Blutzusammensetzung unterrichtet, leicht auszugleichen. Beim Menschen kommt es gar nicht in Betracht, ob man bei einer Venae-sectio 20 oder 100 ccm Blut entnimmt. Und dem steht die bequemere Arbeit und der Fehlermultiplikator von 5 im Vergleich zu 100 gegenüber. Ausserdem ist aber nichts dagegen einzuwenden, wenn man für Kaninchen die Blutmenge auf 5—6 ccm herabsetzt, so dass der Fehlermultiplikator 20 wird. Für viele Fragen wird die so zu erzielende Genauigkeit völlig ausreichen.

1) Rend. R. Ac. Lincei t. 12 (1^o) fasc. 12. 1903.

2) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abth. 1903.

VII. Schlussbetrachtung.

Die im vorstehenden mitgeteilten Untersuchungen zeigen, dass die Reaktion von Sauerstoffhämoglobin mit Ferricyankalium in dem beschriebenen Apparat eine allgemein brauchbare Methode abgibt, um ohne Blutgaspumpe den Sauerstoffgehalt des Blutes zu bestimmen. Allerdings muss die Einschränkung gemacht werden, dass, wenn wir die nach der Pflüger'schen Methode in einwandsfreier Weise gewonnenen Blutsauerstoffwerte als die richtigen zugrunde legen, mit Hilfe der Ferricyankaliumreaktion bisweilen geringere Sauerstoffmengen erzielt werden. Diese Abweichung ist dann ohne Belang, wenn, wie es wohl meistens für klinische und pharmakologische Zwecke geschehen wird, an dem gleichen Versuchsindividuum mehrere Untersuchungen relativ kurze Zeit nacheinander unter verschiedenen Bedingungen ausgeführt werden. Andererseits ist zu bedenken, dass diese Abweichungen auf einer physiologisch interessanten Eigenschaft des Blutes, seinem individuell oder eventuell auch zeitlich verschieden hohen Zehrungsvermögen für Sauerstoff beruhen, also kaum als Fehler der Methode bezeichnet werden können. Man wird auch leicht finden, ob bei dem betreffenden Blut eine erhebliche Zehrung zu befürchten ist, wenn man $\frac{1}{2}$ —1 Stunde nach Beendigung der Sauerstoffentwicklung noch eine Kontrollablesung macht, bei der keine erhebliche Gasabnahme eintreten darf. Will man absolute Zahlen haben, so wird man eventuell auf ein grösseres Beobachtungsmaterial Bezug nehmen müssen. Diese Mühe wird aber durch das im Vergleich zur Blutgaspumpe viel bequemere, schnellere und billigere Arbeiten mit unserem Apparat mehr als aufgewogen. Natürlich steht auch nichts im Wege, nach Haldane's Vorgang (durch Zusatz von Weinsäure zu der Mischung von Methämoglobin, Ammoniak und Ferricyankalium) nach beendeter Sauerstoffanalyse die Kohlensäurebestimmung in derselben Probe anzuschliessen. Man hätte dann in unserem Apparat die Säure in Kugel 2 einzufüllen.

Um einen kurzen Überblick über die Fragen zu geben, die mit Hilfe der neuen Methodik relativ leicht zu lösen sind, und die ich später zu bearbeiten gedenke, mögen hier genannt werden:

1. Die Änderungen in der Sauerstoffbindung bei der Vergiftung mit Methämoglobin bildenden Stoffen und ihre Beziehungen zu dem klinischen Vergiftungsbilde sowie die Bedeutung der Sauerstoffinhalation

bei diesen Vergiftungen. Haldane hat für Methämoglobingifte ähnliche Versuche in Aussicht gestellt, aber noch nicht mitgeteilt. Wir wissen bekanntlich zurzeit noch nicht, ob das Bild der schweren Vergiftung durch chloresaurer Salze, Anilin, Nitrokörper u. a. in dem Moment einsetzt, in dem die Sauerstoffaufnahme im Blut ungenügend wird¹⁾. Bezüglich der Sauerstoffwirkung bei Anilinvorgiftung fand Brat im Zuntz'schen Institut mit Hilfe des Spektrophotometers eine Änderung im Quotienten des Extinktionskoeffizienten nach Oxyhämoglobin hin infolge von Durchleitung von Sauerstoff durch das Blut des Patienten²⁾. Es fragt sich, ob dieser Vorgang allgemein Gültigkeit besitzt und auf eine beschleunigte Rückbildung des Methämoglobins im Oxyhämoglobin hinweist. Es müsste dann gleichzeitig die Sauerstoffaufnahme im Blut steigen.

2. Die Frage, ob sich durch Einatmung von reinem Sauerstoff beim gesunden Menschen die pro Gramm Hämoglobin gebundene Menge Sauerstoff gegenüber der bei Luftatmung gebundenen erhöht. Da nach Loewy und Zuntz das Blut bei Körpertemperatur und Luftschüttelung nur zu etwa 89 % und beim Passieren der Lunge zu nur wenig über 80 % mit Sauerstoff gesättigt wird, so muss man bestimmt ein positives Resultat erwarten.

3. Eine eingehende Bearbeitung der von Paul Bert und Viault³⁾ konstatierten Beobachtung, dass das Blut von Tieren, die längere Zeit auf hohen Bergen leben, ein ungewöhnlich hohes Absorptionsvermögen für Sauerstoff zeigt, ferner die Bestimmung der Blutgase auf hohen Bergen u. a. m., Fragen, die, wie erwähnt, schon zum Teil auch von anderer Seite in Angriff genommen sind. Die Paul Bert'schen Sauerstoffanalysen vom Blut der Tiere aus den Anden sind jedenfalls äusserst unsicher; es ist kaum anzunehmen, dass ein Blut noch nach Monaten seine maximale Sauerstoffbindung besitzt; diese Tatsache wäre zunächst definitiv zu entscheiden. Da-

1) Vgl. Dittrich, Über methämoglobinbildende Gifte. Arch. f. exper. Pathol. Bd. 29. 1892.

2) Deutsche med. Wochenschr. 1901. (Verein f. inn. Med. Berlin, 24. Febr.)

3) Compt. rend. Ac. t. 94 p. 802. 1885; t. 112 p. 295. 1891; t. 114 p. 1562. 1892.

gegen scheinen die Sauerstoff- und Eisenwerte von Viault und Müntz¹⁾ zuverlässiger zu sein.

4. Die Bestimmung des Sättigungsgrades des Blutes im Fieber und bei anderen pathologischen Prozessen gegenüber der Norm. Dass beim Zirkulieren von Bakterien im Blut die maximale Sauerstoffbindung sich ändert und die maximale Sättigung kaum in einwandsfreier Weise zu erweisen ist, geht sicher aus Beobachtungen von Paul Bert hervor. Anders steht die Frage, wenn es sich um durch Toxine oder Wärmestich erzeugtes Fieber handelt. Hier wird man eine Antwort erwarten dürfen, ob vielleicht die Menge der sauerstoffverbrauchenden, leicht oxydablen Stoffe vermehrt ist. Ausserdem fragt es sich, ob die Dissoziationskurve von pathologischem Blut einen anormalen Verlauf nimmt.

Es wären noch manche, mehr klinische Fragen zu erwähnen, die trotz des grossen Interesses, das sie bieten, infolge der technisch so schwierigen Blutgasanalysen bisher keine Bearbeitung fanden.

Mit Rücksicht auf diese klinische Anwendbarkeit der Methode soll noch kurz auf die Schwierigkeiten hingewiesen werden, die sich der Blutgasbestimmung im genuinen, der Ader entströmenden Blut übrigens ohne Rücksicht auf die Methode der Sauerstoffanalyse bieten: Es ist ja nichts Neues, dass die Blutverteilung im venösen Gefässgebiet ausserordentlich leicht durch infolge der Operation bedingte Stauung, durch Temperaturänderungen, Änderungen der Atmung u. a. beeinflusst wird. Es erscheint daher kaum zweckentsprechend, bei Bearbeitung der obigen Fragen direkt der Vene entnommenes Blut (z. B. vom Menschen) zu benutzen. Aber auch der Gasgehalt des arteriellen Blutes wechselt nicht unerheblich, wenn auch in engeren Grenzen. So wissen wir seit Paul Bert, Geppert und Zuntz u. A., dass die infolge der Fesselung u. s. w. erregte Atmung des Tieres den Sauerstoffgehalt des Blutes um 10 % des Sauerstoffvolumens erhöhen kann.

Paul Bert:

I. Hund, kuraresiert. Künstliche Atmung.

1. 16 Atemzüge pro Minute: O₂ % 19,7,
2. 70 " " " O₂ % 20,7.

1) Compt. rend. Ac. t. 112 p. 288. 1891.

- II. Hund, ruhig . 18,6 % O₂,
 „ unruhig 19,4 % O₂.
- III. Hund, normal atmend . 11,7 % O₂.
 NH₃ vor Nase gehalten 12,4 % O₂,
- IV. Normale Atmung 15,1, 16,0, 19,8 % O₂,
 Nach Anlegung einer Trachealkanüle 20,3, 23,4, 21,5 % O₂.
- V. Hund, nüchtern 22,5 % O₂,
 „ während Verdauung 20,2 % O₂.

Geppert und Zuntz: Tab. XXI.

| O ₂ % in Ruhe | in sensibler Erregung, |
|--------------------------|------------------------|
| 18,31 | 20,78, |
| 20,22 | 20,26. |

Der Grund liegt darin, dass die Alveolarluft der Atmosphäre ähnlicher wird, und dass die in Ruhe atelektatischen Lungenteile ventiliert werden.

Man wird also entweder nach Geppert und Zuntz jede Erregung ausschliessen müssen oder bei der Blutentnahme jedes Mal durch sensible Reizung (Anspritzen mit heissem Wasser) für maximale Durchlüftung Sorge zu tragen haben.

Diese Schwierigkeiten umgeht man ganz, wenn man das Blut vorher defibriniert und, wie Loewy es für Bestimmung des Schlagvolumens u. s. w. des Menschen getan, im Tonometer bei 38° C. mit verschiedenen Sauerstoffgemengen (etwa Luft und zweitens 15 % Sauerstoff) schüttelt und sodann durch Ferricyankaliumentgasung die Aufnahmefähigkeit gegenüber verschiedenen Sauerstoffdrucken ermittelt. Diese Art des Vorgehens dürfte für Fragen der menschlichen Pathologie am empfehlenswertesten sein.

Es wird weiterhin Sache des Einzelnen sein, ob er die Ungleichheiten in der Sauerstoffentwicklung mit Ferricyankalium in den Kauf nehmen oder die maximale Sauerstoffaufnahme durch Kohlenoxydsättigung prüfen will, wobei jede „Zehrung“ wegfällt.

Endlich soll hier nur noch erwähnt werden, dass die Ferricyankaliumreaktion mit Oxy- oder Kohlenoxydhämoglobin sich am einfachsten nach Hüfner und v. Zeynek erklärt, wenn man für Methämoglobin die Formel $\text{Hb} \begin{smallmatrix} \text{OH} \\ < \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$ annimmt. Auf einige Konsequenzen dieser Auffassung und weitere Beobachtungen über die Met-

hämoglobinbildung wird in Kürze in einer besonderen Arbeit näher eingegangen werden.

Bezüglich der Einzelresultate, die in der vorliegenden Arbeit enthalten sind, möge zum Schluss nochmals zusammenfassend erwähnt werden, dass

1. die Dissoziationskurve von Hundeblut in zwei in diesem Sinne verwerteten Versuchen fast genau so verlief, wie sie von Loewy und Zuntz kürzlich beschrieben wurde, entgegen dem von Hüfner beobachteten Verlauf;

2. in drei Versuchen die Sauerstoffspannung des arteriellen Blutes je nach der Tiefe der Atmung zwischen 91—100 % gefunden wurde;

3. in Übereinstimmung mit Pflüger's Beobachtung die Sauerstoffzehrung des Blutes nach Austritt aus dem Gefäss bei verschiedenen Individuen äusserst verschieden verläuft und innerhalb weiter Grenzen in vorher nicht bestimmbarer Weise schwankt;

4. mehrfach ein während 24 Stunden und sogar länger bei niedriger Temperatur aufbewahrtes Blut noch normale Sauerstoffbindung zeigte. Auch hier fanden sich dieselben Schwankungen wie bei der Sauerstoffzehrung.

Anhang.

Beispiele zur Berechnung der Versuche.

I. Versuch vom 22. Januar 1903.

Teckel, Gewicht 12,880 kg.

Um 11^h 40' wird die Art. fem. vermittelt Glaskanüle mit einer T-Leitung von der gleichen Weite wie die Kanüle verbunden, Dieselbe führt erstens zu dem Schwanzhahn des Apparates, zweitens zu einem in gleicher Höhe wie der Apparat stehenden Tourniquet von fünf Röhren, jede etwa 200 ccm fassend. Die Röhren sowie die Leitung sind bis an die Kanüle heran mit Quecksilber gefüllt. Vermittelt Schraubenklemmen kann die Zufuhr an den verschiedenen Stellen der Leitung reguliert werden. Zwischen T-Teilung und Apparat befindet sich ein in 8° kaltem Wasser stehendes U-Rohr. Dauer der Einfüllung in den Apparat 30'', in die erste Röhre gleichfalls 30'', in zwei andere Röhren 1' 30''. In den Röhren wird das

Blut durch Schütteln mit Quecksilber ohne Luftzutritt defibriniert.
Weiteres siehe vorher (Tab. III Versuchsreihe 3a).

Berechnung.

Blut-Probe direkt aus der Arterie.

| Abgelesener Stand des Wassers in Bürette <i>B</i> | Stand in <i>B</i> , korrigiert | Abgelesener Stand des Wassers in Bürette <i>TB</i> | Stand in <i>TB</i> , korrigiert | H ₂ O Temp. ° | Zeit h / | Barom. mm |
|--|--------------------------------------|---|---------------------------------------|--------------------------------|-------------|--------------|
| 2,11 | 2,13 | 3,00 | 3,06 | 11,6 | 11 30 | — |

Nach der Bluteinfüllung und sofortigem Einfließenlassen in das Schüttelgefäß sowie Mischung mit Ferricyankaliumlösung:

| Abgelesener Stand des Wassers in Bürette <i>B</i> | Stand in <i>B</i> , korrigiert | Abgelesener Stand des Wassers in Bürette <i>TB</i> | Stand in <i>TB</i> , korrigiert | H ₂ O Temp. ° | Zeit h / | Barom. mm |
|--|--------------------------------------|---|---------------------------------------|--------------------------------|-------------|--------------|
| 6,54 | — | 3,20 | — | 12 | 12 05 | 766,9 |
| 6,90 | — | 3,29 | — | — | 12 30 | — |
| 6,90 | — | 3,31 | — | — | 12 36 | — |
| 6,98 | — | 3,35 | — | — | 12 51 | — |
| 7,01 | 7,10 | 3,36 | 3,43 | — | 12 55 | — |
| 7,06 | — | 3,39 | — | — | 12 59 | — |

O₂ entwickelt . . . 7,10 — 2,13 = 4,97 ccm

Ausdehnung in *TB* 3,43 — 3,06 = 0,37 „

O₂-Bildung 4,60 ccm (Wert *a* in Tab. II.)

I. Korrektur für physikalische Absorption in der Blutlösung im Apparat: (Wert. *b* in Tab. II).

Die im Schüttelgefäß enthaltene Luftmasse = 145 ccm bestand vor der Sauerstoffentwicklung aus 21 % und 79 % Stickstoff. Es kamen hinzu 4,60 ccm Sauerstoff.

100 ccm enthalten also 3,2 ccm Sauerstoff mehr als vorher.

Der Absorptionskoeffizient des Sauerstoffs gegenüber dem des Stickstoffs ist bei gleicher Temperatur um 0,94 ccm grösser; d. h. es sind gegenüber der vorher in der Blutlösung absorbierten Stickstoffmenge auf 100 ccm Gas 0,94 ccm mehr absorbiert, somit für 3,2 ccm 0,030 ccm, die demnach zu der entwickelten Sauerstoffmenge hinzuzurechnen sind. Also: 4,60 + 0,03 = 4,63 ccm (Wert *c* der Tab. II).

II. Protokoll einer der Analysen vom 15. Mai 1903 (Tab. II. Nr. 18).

Ganz frisches defibriniertes Hundeblut. Schüttelung mit Luft.
Bestimmung gleichzeitig im Apparat und in der Blutgaspumpe.

1. Bestimmung im Ferricyankalium-Apparat (3. Probe).

| Abgelesener Stand des Wassers in Bürette <i>B</i> | Stand in <i>B</i> , korrigiert | Abgelesener Stand des Wassers in Bürette <i>TB</i> | Stand in <i>TB</i> , korrigiert | H ₂ O Temp. ° | Zeit h / | Barom. mm |
|--|--------------------------------------|---|--|--------------------------------|-------------|--------------|
| 2,10 | — | 1,40 | — | — | 4 05 | 766,55 |
| 2,17 | — | 1,45 | — | — | 4 15 | — |
| 2,20 | 2,23 | 1,47 | 1,49 | 18,5 | 4 20 | — |
| 7,35 | — | 1,55 | — | — | 4 53 | — |
| 7,37 | — | 1,57 | — | — | 5 03 | — |
| 7,45 | — | 1,58 | — | — | 5 28 | — |
| 7,46 | 7,56 | 1,59 | 1,61 | — | 5 38 | — |
| — | 5,33 | — | 0,12 = 5,11 ccm entwickelte Menge O ₂ | | | |

Korrektur I. 0,033 ccm. Demnach gesamte entwickelte
Sauerstoffmenge = 5,143 (*c* der Tabelle II).

log 5,143 71 122

Reduktion auf 0° C. 760 mm. Landolt-

Börnstein, Tab. 22, für 18,5° und

766,55 mm 96 472

67 594

Kaliber der Blutkugel 21,221 32 677

34 917 = 22,344 % O₂.

Korrektur III. Physikalische Absorption.

Bar. abzüglich der Wasserdampfension bei

Schütteltemperatur (Zimmer-Temperatur

= 21° C.) 745,6 87 251

O₂-Gehalt der Schüttelluft (Atmosph. Luft) 20 % 30 103

Absorptionskoeffizient des O₂ bei 21° C., für

Wasser 3,081—¹/₁₀ für Blut: 0,308 . . . 2,773 44 295

760 11 919

73 568

= 0,544 ccm

Endresultat 22,888 % O₂ im Blut.

2. Bestimmung in der Pumpe (3. Probe).

Angewendete Blutmenge 24,485 ccm.

Analysenrohr XII. Analyse im Apparat von Loewy.

| | ccm | ccm | in Prozent des Blutvolumens | |
|----------------------|--------------|---------|--------------------------------|-----------------|
| Gesamtgas | 11,049 | } 2,721 | 11,11 | CO ₂ |
| O + N | 8,3279 | | | |
| N Kupferabsorption . | 1,6431 | | | |
| | <u>6,711</u> | | | |
| | N ‰ | | | |

Bei 20,4° C. (Schüttel-

temp.) phys. absorb.

in Wasser N 1.580

—¹/₁₀ : 0,158 . . . 1,422 N ‰

N eingedrungen (aus

Luft von aussen) . 5,289 N ‰ entspr. 1,400 O₂ eingedrungen
Resultat 25,902 ‰ O₂ im Blut.