



XII  $\frac{205}{331}$

## Ueber eine titrimetrische Methode der Hämoglobinbestimmung.

Von Friedrich Akel, stud. med.

Seitdem das Blut in seinen morphologischen und chemischen Bestandteilen genauer erforscht ist, und seitdem man seine physikalischen und physiologischen Eigenschaften näher kennen gelernt hat, ist das Suchen nach exacten Methoden der quantitativen Hämoglobinbestimmung des Blutes immer reger und reger geworden. Im Verlaufe einiger Jahrzehnte ist in der That eine imponirende Zahl solcher Methoden zu Tage gefördert worden.

So zahlreich auch die in Rede stehenden Bestimmungsweisen des Blutfarbstoffes sind, genügen zur Zeit nur äusserst wenige derselben den Anforderungen, die der Praktiker an eine solche Methode stellt, nämlich, in kurzer Zeit, mit geringen Blutmengen exacte Hämoglobinbestimmungen ohne complicirte und schwer zu handhabende Apparate ausführen zu können. Die hämometrische Methode von v. Fleischl, die hämoglobinometrische Methode von Gowers und die hämatoskopische Methode von Hénocque erlauben der spektro-photometrischen Methode und der chemischen Methode der Eisenbestimmung gegenüber allerdings eine bedeutende Ersparnis an Zeit und Untersuchungsmaterial, bleiben aber an Exactheit hinter den letzteren zurück.

Es dürfte daher der Versuch einer neuen, auf chemischem Prinzip beruhenden Methode der quantitativen Hämoglobin-

globinbestimmung, zu welchem die Darstellung der Metallhämoglobine durch Herrn Prof. R. Kobert geführt hat, wohl gerechtfertigt erscheinen.

Im Jahre 1891 referirte Herr Prof. Kobert hier vor der Gesellschaft über ein neues von ihm entdecktes Hämoglobin-derivat, welches durch Einwirkung von Zinkstaub auf Blutlösungen von neutraler Reaction entsteht, wenn beide mit einander energisch geschüttelt werden. Autor bezeichnete den neu entdeckten Körper mit dem Namen Parhämoglobin, später Zinkparhämoglobin oder, so weit er Handelspräparat ist, als Zinkhämol.\*)

Das nähere Studium der Eigenschaften des Zinkhämols übernahm unter der Leitung Prof. Kobert's Grahe\*\*). Letztgenanntem Autor gelang es, das Zinkhämol ausser mit Zinkstaub, mit Hülfe von Zinkoxyd, Zinkoxydhydrat und verschiedenen Zinksalzen darzustellen. Alle Zinkpräparate, welche in Blutlösungen Fällungen erzeugten, brachten auch in chemisch reinen Hämoglobinlösungen das Hämoglobin zur Fällung. Grahe nimmt auf Grund seiner Untersuchungen und Analysen eine chemische Verbindung von Zink und Hämoglobin im Zinkhämol an und zwar eine Verbindung in dem Verhältnis, dass das Zinkhämol 1,01 % metallisches Zink enthält.

Klempner\*\*\*), der die Wirkung des Kupfers auf den

\*) Schon im Jahre 1853 machte H. Rose (Vierteljahrsschrift für gerichtliche Med. 1853, IV, pag. 315. Citirt nach Preyer) die Beobachtung, dass der Blutfarbstoff durch Metallverbindungen ausgefällt werden kann. Rose sagt: „Wird frisch gefälltes Eisenoxydhydrat mit einer verdünnten Auflösung von Hb in der Kälte unter öfterem Umschütteln digerirt, so enthält schon nach 24 Stunden die filtrirte Auflösung kein Hb.“ Ferner ist die Fällbarkeit des Hb. durch Metallsalze durch Lehmann und Preyer studirt worden, die erneute Darstellung und richtige Deutung der vergessenen Metallhämoglobine ist jedoch Prof. Kobert vorbehalten gewesen.

\*\*) Ueber die Einwirkung des Zinkes und seiner Salze auf das Blut und den Blutfarbstoff. Arbeiten des pharmakolog. Institutes zu Dorpat. IX. 1893.

\*\*\*) Zur Wirkung des Kupfers auf den tierischen Organismus. Diss. Jurjew 1894.

tierischen Organismus untersuchte, versuchte auch das Verhalten des Kupfers zu Blut extra corpus zu eruiren. Hierbei constatirte er auch bei Kupfer eine ausgesprochene Neigung mit dem Hämoglobin des Blutes eine Verbindung einzugehen. Diese Verbindung trat ein, wo Kupfer direkt mit Hämoglobin, d. h. mit in Wasser gelöstem Blut zusammengebracht wurde. Reine Hämoglobinlösungen hat Klemptner zu seinen Experimenten nicht benutzt. Schon an seinen ersten derartigen Versuchen bemerkte genannter Autor, dass der Blutfarbstoff zur vollständigen Ausfällung einer bestimmten Menge von Kupfer bedarf. Setzte er mehr hinzu, so konnte ein Ueberschuss von Metall nachgewiesen werden, setzte er weniger von seiner Kupferlösung zur Blutlösung hinzu, so blieb ein Teil des Hämoglobins ungefällt in Lösung.

Um dieses Verhalten genauer prüfen zu können, fügte Klemptner einer 1%-igen Blutlösung allmählig unter stetem Umschütteln eine Lösung von weinsaurem Kupferoxyd-Natron hinzu, ab und zu dazwischen das Filtrat auf Kupferreaction prüfend. Dabei constatirte er, dass entsprechend der zugesetzten Kupfermenge die rote Farbe des Filtrates immer heller und heller wurde, bis schliesslich das Filtrat ganz wasserklar durchging. Denselben Versuch wiederholte er mit Blutproben von Schwein, Hund, Katze, Pferd, Taube und mit menschlichem Leichenblut und fand, dass die zur quantitativen Ausfällung des Hämoglobins nötigen Kupfermengen mit einigen Ausnahmen im direkten Verhältnis zu den in Lehrbüchern angegebenen Prozentzahlen des Blutes dieser Tiere an Hämoglobin stehen, mit anderen Worten, Klemptner fand, dass aus der verbrauchten Kupfermenge die quantitativ ausgefällte Hämoglobinmenge annähernd berechnet werden kann. Zur Ausfällung von einem Gramm Hämoglobin waren 0,035 g. metallisches Kupfer erforderlich.

Die Verbindung des Kupfers mit dem Blutfarbstoff hält Autor für eine chemische — und zwar für hämoglobinsaures Kupfer — da es im bestimmten Verhältnis diese Verbindung

eingeht und von derselben auf mechanischem Wege nicht mehr getrennt werden kann.

Der Gedanke Prof. Koberts den Hämoglobingehalt des Blutes titrimetrisch zu bestimmen, wurde also behufs der Verwirklichung zuerst von Klempner in Angriff genommen, ohne dass derselbe zu genaueren einheitlichen Resultaten gelangt wäre. Ausserdem hat genannter Autor bei den Bestimmungen sich nicht der Genauigkeit befleissigt, die wir bei seinem Nachfolger Jutt finden.

Jutt\*) beschäftigte sich mit den Verbindungen des Blutfarbstoffes mit Metallen weit eingehender, als seine beiden Vorgänger, Grahe und Klempner. Es gelang ihm das Hämoglobin ausser mit Zink und Kupfer mit 13 anderen Metallen zu verbinden. Der Metallgehalt dieser Verbindungen war bei allen Darstellungen für jedes Metall ein verschiedener, für dieses aber ganz constanter, so dass die Metallhämoglobine — wie man diese Verbindungen auch nennt — als chemische Individuen angesehen werden müssen.

Nach den quantitativen Analysen von Jutt enthält das  
 Kupferhämoglobin 2,2 % metall. Kupfer,  
 Zinkhämoglobin 2,3 % metall. Zink,  
 Uranhämoglobin 7,8 % metall. Uran,  
 Cadmiumhämoglobin 4,0 % metall. Cadmium.

Auf Anraten Prof. Kobert's nahm Jutt die Versuche der Hämoglobintitrationen wieder auf. Zum Titriren benutzte er hauptsächlich Lösungen von Zink- und Kupfersalzen. Späterhin hat er auch mit Uran- und Cadmiumsalzen gearbeitet.

Nach längerem Herumprobiren gelang es Jutt, wie er meint, eine Methode zu finden, nach welcher er mit Kupfer-, Zink-, Uran- und Cadmiumsalzlösungen den Hämoglobingehalt des Blutes titrimetrisch präcise bestimmen

---

\*) Chemische Studien über die Verbindungen des Blutfarbstoffes mit den Schwermetallen. Diss. Jurjew 1894.

konnte. Er fand nämlich, dass wenn man auf 10 ccm frischen unverdünnten Blutes 2 ccm einer 30 %-igen Kochsalzlösung und 2 Tropfen einer 20 %-igen Ammoniaklösung hinzufügt, die Mischung durchschüttelt und dann das Blut 1:100 mit destillirtem Wasser verdünnt, man diese Blutlösung mit obengenannten Metallsalzlösungen titriren kann, ohne dass diese Metalle mit Serum- und Strombestandteilen sich eher verbinden, bis alles Hämoglobin aus der Lösung quantitativ ausgefällt worden ist. Jutt bringt in seiner Dissertation eine vergleichende Tabelle, in welcher die Ergebnisse seiner Titrimethode bei Anwendung von Zink- und Kupfersalzen den Resultaten, die nach optischen Methoden gewonnen sind, zur Seite gestellt sind. Die Uebereinstimmung der nach verschiedenen Methoden erhaltenen Resultate ist eine frappirende.

Da Jutt die Frage der Hämoglobintitrationen im grossen und ganzen doch nur vorübergehend berühren konnte, so war ein weiteres Studium der quantitativen Ausfällung des Hämoglobins durch Metallsalze erwünscht. Mit Freuden ergriff ich die Gelegenheit mich an die Ausführung dieser Aufgabe machen zu dürfen.

Bevor ich zur Besprechung meiner Versuche übergehe, möchte ich einige Worte über die Zulässigkeit dieser neuen Methode der quantitativen Hämoglobinbestimmung von theoretischen Standpunkte aus betrachten, vorausschicken.

Da der Blutfarbstoff erwiesener Maassen mit den Metallen Zn, Cu, Cd, Ur etc. chemische Verbindungen von ganz constanten Verhältnissen eingeht, so ist hiermit im Prinzip die Möglichkeit einer maassanalytischen Methode der Hämoglobinbestimmung in gewisser Hinsicht schon gegeben. Die chemische Formel der beim Titriren entstehenden Metallhämoglobinverbindung mag zunächst noch — wie in der That der Fall — uns unbekannt sein. Sind doch Zuckertitrationen vielfach ausgeführt worden, ohne dass sich diese Titrationen in Form einer Gleichung, bestehend aus chemischen Formeln, zur Zeit aufstellen liessen. Es fragt sich aber, ob wir einen brauchbaren Indicator ausfindig machen

können, der uns das Ende des Processes — den Abschluss der Verbindung des betreffenden Metalles mit dem Hämoglobin präcise anzeigt? In der That ist der Indicator der bei Hämoglobintitrationen die Endreaction, an und für sich sehr zuverlässig: Der Moment des Verschwindens der Rotfärbung und der Auftritt der wasserklaren Farbe der über dem ausgefallten Metallhämoglobin stehenden Flüssigkeit ist ein untrügliches Zeichen dessen, dass alles in Lösung sich befindende Hämoglobin quantitativ ausgefällt ist, d. h. sich mit dem betreffenden Metall zum chemischen Individuum in Form des Metallhämoglobins verbunden hat. Wie dieser Moment experimentell constatirt werden kann, davon soll weiter unten die Rede sein.

Nun wissen wir aber, dass ausser dem Hämoglobin im Blute noch andere Eiweisssubstanzen enthalten sind, die auch mit Metallen Verbindungen, wenn auch vielleicht keine chemischen eingehen. Solche Eiweisskörper sind das Serumalbumin, das Serumbulbin, das Stromaglobulin und das Nuclealbuminat. Es ist klar, dass bei Hämoglobintitrationen keine anderen Eiweisskörper ausser dem Blutfarbstoff zur Fällung gelangen dürfen, weil in solchem Fall die Controlle darüber, wieviel Metall mit dem Hämoglobin, wieviel mit den Serumeiweissstoffen sich verbunden hat, unmöglich ist.

Nun begann ich mit meinen Versuchen. Ich führte, nachdem ich mich durch Vorversuche im Titriren einiger Massen geübt hatte, zunächst einmal nach der von Jutt angegebenen Methode und unter Benutzung der von Jutt analytisch und titrimetrisch festgestellten Zahlen eine Anzahl von Titrationen des Blutes auf seinen Hämoglobingehalt aus. Ich erwartete dabei keineswegs, dass die Zahlen von Jutt sich als absolut richtig erweisen würden, aber es war doch denkbar, dass wenigstens für einige Metalle dabei annehmbare Werte herauskommen könnten. Zum Titriren benutzte ich anfangs Lösungen von Kupfer- und Uransalzen. Zu diesen Metallen griff ich deshalb, weil nach der Auffassung des oben genannten Autors die genannten Metalle zum Titriren sich am

besten zu eignen schienen. Nachher führte ich auch mit Zink- und Cadmiumsalzen eine grössere Reihe von Titrirversuchen aus.

Ich titrirte folgendermaassen. Es wurde ein Gestell mit 9 nebeneinander stehenden Reagenzgläsern genommen. In jedes dieser Gläser wurde ein gleiches, genau abgemessenes Quantum, gewöhnlich 10 oder 20 ccm, von einer 1 %-igen Blutlösung, die mit einer Spur von Ammoniaklösung und einer geringen Menge Kochsalzlösung versetzt worden war, mit einer Messpipette gebracht. Der Zusatz des  $\text{NH}_3$  bezweckte die Auflösung der sonst im Wasser schwerlöslichen Elemente des Blutes (Globulinsubstanzen) das Lackfarbigwerden des Blutes, die  $\text{NaCl}$ -Lösung aber sollte, wie frühere Versuche anderer Autoren ergeben hatten, die Fällungen der Metallhämoglobine beschleunigen. Die im einzelnen Falle zuzusetzende  $\text{NH}_3$ -menge kann nicht genau angegeben werden, weil man sich hier nach der Reaction der zur Bestimmung gelangenden Blutprobe richten muss. Man muss so verfahren, dass die Blutlösung annähernd neutral reagirt. Eine merklich alkalisch reagirende Lösung kann durch eine Spur von  $\text{HCl}$  neutralisirt werden. Nun begann die Ausführung der Titration. In das mittlere, fünfte, Glas wurde soviel von der Titerflüssigkeit gebracht als nach der Berechnung erforderlich zur quantitativen Ausfällung alles Hämoglobins, wenn die zur Bestimmung gelangte Blutprobe genau 10 % Hämoglobin enthielte; in das vierte Glas wurde soviel Titerflüssigkeit gebracht, als zur quantitativen Ausfällung alles Blutfarbstoffes erforderlich, wenn die Blutprobe genau 9 % Hämoglobin enthielte; für das Glas VI wurde ein Hämoglobingehalt von 11 % angenommen etc. Also konnten die Gläser von I—9 einen Hämoglobinwert ergeben, der zwischen 6 und 14 % liegt. Nun wurden die Gläser einzeln energisch geschüttelt und auf 2—4 Stunden (je nach der Intensität der Kälte) in einen Kalten Raum gestellt\*). Nach Verlauf dieser Zeit war

---

\*) Die Temperatur muss natürlich über  $0^\circ$  sein, weil die Blutlösung sonst zu Eis gefriert.

das Metallhämoglobin ausgefallen. Jetzt suchte man festzustellen, in welchem Glase kein ungebundenes Hämoglobin mehr nachzuweisen war, d. h. in welchem Glase alles Hämoglobin quantitativ in Form von Metallhämoglobin ausgefallen war, ohne dass jedoch ein Ueberschuss von ungebundenem Metall sich nachweisen liesse. Aus der Stellung des betreffenden Glases in der Reihe konnte der Hämoglobinwert der Blutprobe, wenn er sich zwischen 6 und 14 % bewegte, wie leicht einzusehen, ermittelt werden.

Die Anwesenheit des ungebundenen Hämoglobins (Indicator) in der über dem ausgefallten Metallhämoglobin stehenden Flüssigkeit kann entweder spektroskopisch oder mit dem Guajakharzreagens nachgewiesen werden. Ich habe folgendes Verfahren für äusserst bequem und zuverlässig gefunden und späterhin stets angewandt. Man filtrirt die überstehende Flüssigkeit durch doppelten Filter und bringt das Filtrat in ein Reagenzglas von recht geringem Querschnitt. Dadurch erzielt man trotz der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Filtrates eine hohe Flüssigkeitssäule. Jetzt hält man das Glas derart gegen eine weisse Fläche, dass die Sehaxe des beobachtenden Auges mit der Längsaxe des Glases zusammenfällt, und das untere Ende des letzteren von der weissen Fläche günstig beleuchtet wird, und beobachtet die Farbe des im Glase sich befindenden Filtrates. Nimmt man eine Spur von Gelbfärbung wahr, so ist entschieden ungebundenes Hämoglobin noch in Lösung; absolute Klarheit deutet auf die Vollständigkeit der Fällung. — Auf diese Weise untersucht man die Gläser auf dem Gestell von links nach rechts aufsteigend, bis man eines ermittelt, wo die wasserklare Farbe des Filtrates die Grenze der Fällung markirt.

Eine auf diese Weise ausgeführte Titration ergibt den Hämoglobingehalt in ganzen Procentzahlen. Will man aber genauere Werte haben, so füge man in die niedriger (links von dem betreffenden Glase) in der Reihe stehenden Gläser soviel Titerflüssigkeit hinzu, als nach der Berechnung erfor-

derlich zur Ausfällung des zwischen ganzen Procentzahlen liegenden Hämoglobinwertes und lasse die Gläser wiederum in der Kälte abstehen.

Als ich nun die Resultate der Titrimethode mit den Ergebnissen, die dieselben Blutproben nach optischen Methoden und zwar nach den Methoden von v. Fleischl und Gowers ergeben hatten, verglich, fand ich zwischen denselben bei den meisten nicht einmal eine annähernde Uebereinstimmung. Nur die Versuche, zu denen ich Zinksalzlösungen (Zinksulfat) angewandt hatte, gaben gleich vonvorneherein recht übereinstimmende Resultate. Die Titrationsen mit verschiedenen Metallen (Cu., Zn., Cd., Ur.) ergaben unter sich verschiedene Resultate.

Es lag nahe anzunehmen, dass die von Jutt angegebenen Titerzahlen für Kupfer, Uran und Cadmium nach denen ich die Ergebnisse meiner Hämoglobintitrationsen berechnet hatte, nicht richtig sind, und corrigirt werden müssen. Der Titer für Zink schien der Wirklichkeit zu entsprechen. Infolgedessen sah ich mich genötigt behufs der Controlle neue selbständige Bestimmungen der Sättigungscoefficienten des Hämoglobins für die genannten Metalle vorzunehmen.

Zu dem Zweck stellte ich mir aus Pferdeblut zu wiederholten Malen chemisch reine Hämoglobinlösungen von ganz bestimmtem Hämoglobingehalt dar und versuchte titrimetrisch festzustellen, wieviel Cu, Zn, Cd, Ur erforderlich ist, um eine genau bestimmte Quantität Hämoglobin auszufällen. Hierbei fand ich im Vergleich zu Jutt folgende Zahlen:

|                 | nach Jutt     | nach meinen Untersuchung |
|-----------------|---------------|--------------------------|
| Kupferhb. enth. | 2,2 % metall. | Cu, 0,8 % met. Cu.       |
| Zinkhb. „       | 2,3 % „       | Zn, 2,3 % und 1,1 %      |
| Uranhb. „       | 7,8 % „       | Ur, 10,8 %               |
| Cadmiumhb. „    | 4,0 % „       | Cd, 3,9 %                |

Wie aus der Tabelle ersichtlich, stimmen die Titerzahlen Jutt's für Zink und Cadmium sehr gut mit den betreffenden von mir gefundenen Werten überein; für Kupfer und Uran gehen dieselben aber ganz beträchtlich auseinander. Meine

Kupferzahl ist viel niedriger, die Uranzahl viel höher als die entsprechenden Zahlen bei Jutt. Wie diese Differenz zu erklären sein wird, hoffe ich späterhin durch weitere Versuche und quantitative Analysen darthun zu können.

Ferner machte ich bei diesen Versuchen die Beobachtung, dass das Zink mit dem Hämoglobin in 2 ganz constanten Verhältnissen, und zwar im Verhältnis wie 1:2, Verbindungen eingeht — eine Thatsache, auf die die Untersuchungen von Grahe und Jutt hingewiesen haben. Ueber die Bedingungen des Entstehens der einen oder der anderen Verbindung kann ich vorläufig nichts näheres angeben, da mein Verfahren beim Titriren jedesmal bis in die Einzelheiten durchaus dasselbe war. Ich verarbeitete 4 verschiedene Blutproben, stammend von 4 verschiedenen Pferden, zu Oxyhämoglobinkrystallen. Drei verschiedene Krystalllösungen ergaben constant die höhere, die vierte constant die niedrigere Procentzahl — ein sehr bemerkenswertes Ereignis! Auch beim Titriren von Blutlösungen konnte ich nur einige Mal das Eingehen der Verbindung nach der niedrigeren Titerzahl constatiren. Alle übrigen Male kam ich auf die höhere Zahl, die daher im Nachstehenden ausschliesslich Berücksichtigung finden soll.

Als ich nun bei der Berechnung der Hämoglobinwerte aus den Ergebnissen der Titrations meine eigenen Titerzahlen anwandte, ergaben die Titrations mit Kupfer- und Uransalzlösungen allerdings viel näher der Wirklichkeit liegende Resultate als vorhin.

Jedoch wichen letztere vom wahren Werte noch ganz bedeutend ab, indem sie den Hämoglobingehalt beträchtlich höher angaben. Titrations mit Zinksalzlösungen liessen, wie vorhin, ganz brauchbare Zahlen gewinnen. (Das Cadmium habe ich bald bei Seite gelassen, weil das Cadmiumhämoglobin in Wasser verhältnissmässig leicht löslich ist, welcher Umstand beim Titriren insofern leicht Fehler bedingen kann, als das eventuell gelöste Cadmiumhämoglobin ungebundenes Hämoglobin vortäuschen kann).

Die mangelhaften Resultate meiner titrimetrischen Hämoglobinbestimmungen brachten mich auf den Gedanken, nachzuprüfen, ob beim Titriren nicht auch ein Teil der in den Blutlösungen ausser dem Blutfarbstoff enthaltenen Serumeiweissstoffe, trotz des Zusatzes von  $\text{NH}_3$  und  $\text{NaCl}$ , mit dem Metall Verbindungen eingeht?

Behufs der Beantwortung dieser Frage stellte ich folgende Versuche an.

Ich stellte mir 3 Portionen Blutlösungen von ganz gleichem Hämoglobingehalt dar und versetzte diesselben mit der nötigen Menge von  $\text{NH}_3$  und  $\text{NaCl}$ . Die erste Portion enthielt nur äusserst geringe Spuren von Serum\*); die zweite Portion enthielt neben dem Hämoglobin die normale Menge an Serum, (Lösung des normalen Blutes); die dritte Portion enthielt ausser dem Hämoglobin die doppelte Menge des Normalen an Serum. Geht nun das Metall bei Titrationen von Blutlösungen ausser mit dem Blutfarbstoff auch noch mit einen Teil der Serumeiweissstoffe Verbindungen ein, so ist a priori klar, dass beim Titriren dieser drei Blutlösungen von verschiedenem Serumgehalt eine gleichgrosse Hämoglobinmenge zur quantitativen Ausfällung eine verschieden grosse Metallmenge erfordert. Ich gebe hier die Resultate einer Titration wieder, die mit einer 1 %-igen Katzenblutlösung mit Kupfer-, Zink- und Uransalzlösungen ausgeführt wurde nach der Art, wie oben beschrieben.

Es erforderte eine und dieselbe Hämoglobinmenge in der

I. Portion — 0,09 Cu; 1,2 Ur; 0,24 Zn.

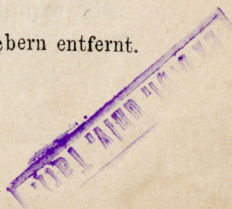
II. Portion — 0,2 Cu; 2,3 Ur; 0,25 Zn.

III. Portion — 0,29 Cu; 2,9 Ur; 0,26 Zn.

Wir sehen, dass bei Anwendung von Zink die Metallmenge ganz unbedeutend variiren, bei Uran und Kupfer aber der Unterschied zwischen den Metallmengen ein beträchtlicher ist.

Aus vielen derartig angestellten Versuchen lässt sich mit Sicherheit der Schluss ziehen, dass beim Titriren von Blut-

\*) Das Serum wurde durch Abstehenlassen und Abhebern entfernt.



lösungen ein Teil der Serumeiweissstoffe trotz des Zusatzes von  $\text{NH}_3$  und  $\text{NaCl}$  mit dem Metall Verbindungen eingeht.

Diese Thatsache sollte uns garnicht wundern, da die Fällbarkeit der Serumeiweissstoffe durch Metalle schon längst erwiesen worden ist. Ein geringer Zusatz von  $\text{NH}_3$  zur Blutlösung verhindert aber nicht — wie Jutt meint — die Fällbarkeit der Proteine, sondern, im Gegenteil, erhöht sogar dieselbe, indem die Eiweissstoffe dadurch in Lösung gebracht werden, in welcher Form sie sich gerade viel leichter mit Metallen verbinden können. Auf diesen Umstand haben schon Lassaigue, Vogel und Reischauer\*), die Blutserum mit Kupfersulfat bei Anwesenheit von  $\text{NH}_3$  oder  $\text{KOH}$  zur Fällung brachten. Allerdings muss zugegeben werden, dass der Zusatz von einer Spur  $\text{NH}_3$  beim Titriren die Fällungen leichter und präziser eintreten lässt, weil der sich bildende Niederschlag durch das sonst zum Teil ungelöste Serumglobulin nicht in Suspension gehalten wird.

Welcher Serum- oder- Strombestandteil vorzugsweise sich mit dem Metall beim Titriren verbindet, kann ich eben mit Sicherheit nicht angeben, weil weitere Versuche darüber noch ausstehen. Wahrscheinlich ist, dass das Serumglobulin am leichtesten eine Verbindung mit Metallen eingeht.

Es leuchtet ein, dass der Hämoglobingehalt von Blutlösungen titrimetrisch nur in dem Falle mit genügender Genauigkeit bestimmt werden kann, wenn es gelingt ein Metall ausfindig zu machen, welches zu Hämoglobin entschieden mehr Avidität besitzt, als zu anderen Eiweissstoffen des Blutes. Ein solches Metall dürfte das Zink sein. Wie meine Versuche mir ergeben haben, geht das Zink beim Titriren von Blutlösungen neben dem Hämoglobin nur in Spuren Verbindungen mit den Serumeiweissstoffen ein, und man kann im Filtrat das ungefällte Eiweiss durch Essigsäure und Ferrocyankalium nachweisen. Die von Jutt empfohlenen Metalle

---

\*) Citirt nach M o r o c h o w e t z, Einheit der Proteinstoffe. Theil I. Moscau, 1892.

Uran und Kupfer zeigen dagegen eine gleich grosse Energie wie zu Hämoglobin so zu anderen Eiweissstoffen des Blutes und eignen sich infolge dessen zu Titrationen von Blutlösungen ganz und gar nicht. Zum Titriren von reinen Hämoglobinlösungen können dagegen auch diese Metalle ohne Bedenken angewandt werden, da hier eben die störende Wirkung des Serums fehlt.

Meine Bluttitrationen, die ich mit Zinksalzlösungen ausführte, ergaben einen etwa um 10 % höheren Hämoglobingehalt als die hämometrische oder die hämoglobinommetrische Methode, d. h. falls ich nach der optischen Methode in einer Blutprobe einen Hämoglobingehalt von 10 % fand, so ergab mir die titrimetrische Methode einen Hb-gehalt von 11 %. Diese Differenz wird, wie leicht einzusehen, dadurch hervorgerufen, das ein Teil des angewandten Metalles sich doch mit den neben dem Hämoglobin in der Blutlösung befindlichen Eiweisskörper verbindet.

Der wahre Wert des Hämoglobins im Blute wird also niemals höher sein können, als die Titration ihn ergibt, wohl muss er aber ein wenig kleiner sein. Man könnte also die Titrimethode wohl praktisch anwenden, indem man an dem gefundenen Werte eine Correctur anbringt, wodurch derselbe um ein Zehntel seiner Grösse verkleinert wird. Diese Correctur wird bei den Blutarten mit gleichem Serumgehalt sich gleich bleiben, bei den anderen aber sich um etwas verschieben müssen, aber nur um sehr wenig, da die meisten Warmblüter in ihrem Serumgehalt wenig differiren.

Ferner kann die Correctur für Blutproben verschiedener Tiere durch quantitative Bestimmungen der ungefällten Serum-eiweissstoffe im Filtrate festgesetzt werden. Diese Versuche glaube ich nächstens ausführen zu können.

Zum Schluss erlaube ich mir zur Orientirung über die Brauchbarkeit der titrimetrischen Methode der quantitativen Hämoglobinbestimmung einige Doppelbestimmungen nach der optischen Methode und mit Hülfe der Titrationen mit Zink tabellarisch vorzuführen.

| Blutart.      | Optische Methoden. |        |                                  | Zn-titration |
|---------------|--------------------|--------|----------------------------------|--------------|
|               | Fleischl           | Gowers | Henocque                         |              |
| Katzenblut    | 11,2 %             | —      | 11 %                             | 12,4 %       |
| Schafsblut    | —                  | —      | 14 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> % | 15,4 %       |
| Menschenblut  | 14 %               | —      | 14 %                             | 14,7 %       |
| Menschenblut  | 13,8 %             | —      | 14 %                             | 14,4 %       |
| Hundeblut     | 9,8 %              | 9,7 %  | —                                | 10,5 %       |
| Rinderblut    | —                  | —      | 10 %                             | 10,8 %       |
| Kälberblut    | —                  | —      | 10 %                             | 11,0 %       |
| Pferdeblut    | —                  | —      | 11 %                             | 11,3 %       |
| Hühnerblut    | —                  | —      | 16 %                             | 16,6 %       |
| Kaninchenblut | 10,0 %             | 9,8 %  | 10 %                             | 11,0 %       |

Vorstehende Versuche wurden im pharmakologischen Institute der Universität unter Prof. Kobert ausgeführt. Der Umstand, dass Prof. Kobert jetzt unsere Universität für immer verlässt, bildet die äussere Veranlassung zur vorläufigen Publikation meiner Ergebnisse, deren Unvollkommenheit mir natürlich genügend bekannt ist.