



Ueber die Grösse  
des  
**Haemoglobinemolecüls.**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer hochverordneten Medicinischen Facultät  
der Kaiserlichen Universität zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

**O. Zinoffsky.**

Ordentliche Opponenten:

Prof. Dr. **B. Körber.** — Prof. Dr. **F. A. Hoffmann.** — Doc. Dr. **G. Bunge.**



**Dorpat.**

Druck von Wilhelm Just's Buch- & Accidenzdruckerei.

1885.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät.

Dorpat, den 21. Mai 1885.

Decan: Stieda.

Nr. 202.

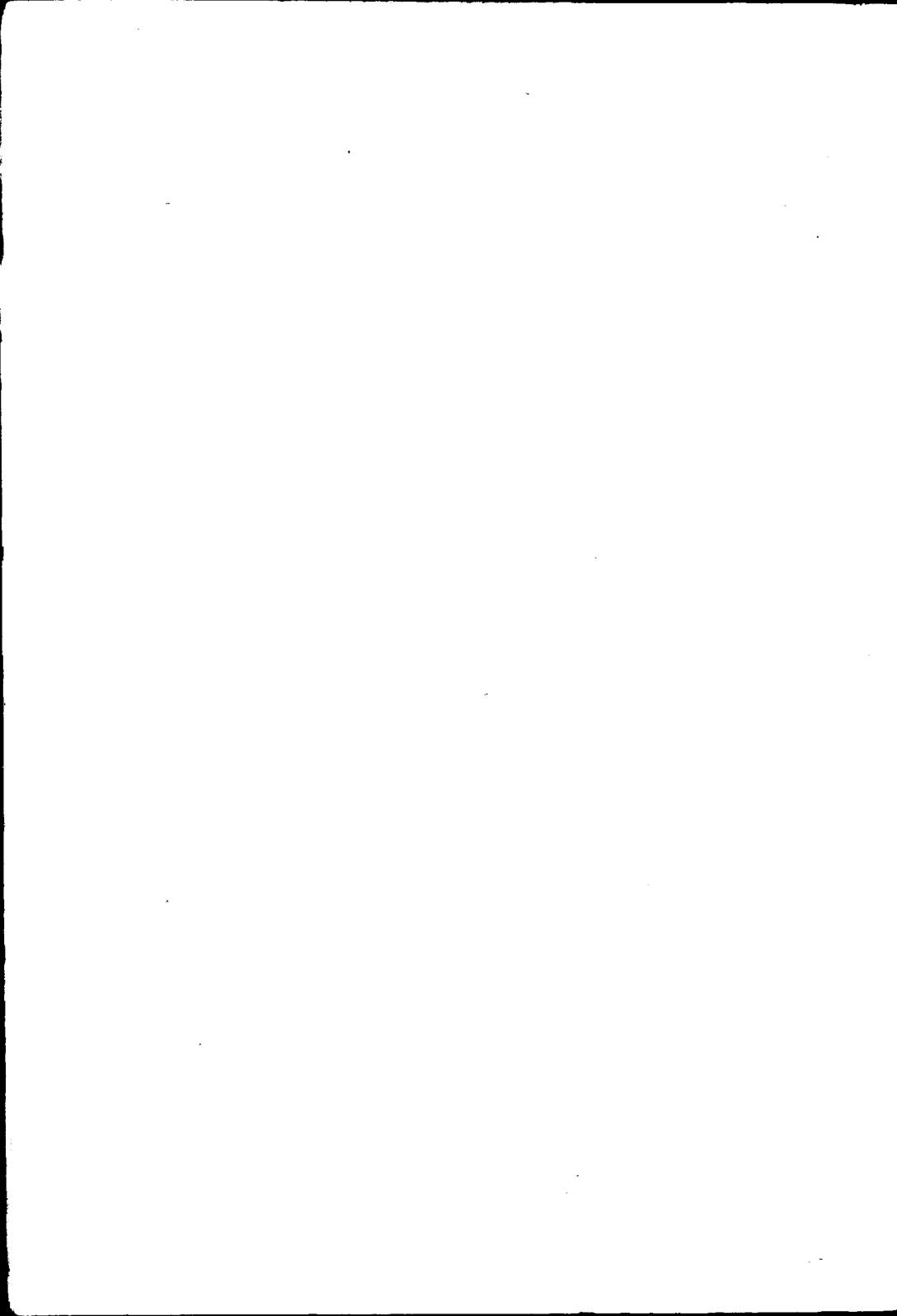
Meiner Mutter

in

LIEBE UND DANKBARKEIT.



Bei meinem Scheiden von der hiesigen Hochschule ist es mir eine angenehme Pflicht den hochverehrten Lehrern für die während meiner Studienzeit erhaltene wissenschaftliche Ausbildung an dieser Stelle meinen Dank abzustatten. Herrn Docenten Dr. *G. Bunge* bitte ich für die mir bei Ausführung der vorliegenden Arbeit zu Theil gewordene Anregung und liebenswürdige Unterstützung meinen Dank entgegenzunehmen.



Die bisherigen Analysen des Haemoglobins haben zu dem überraschenden Resultat geführt, dass diese Verbindung auf ein Atom Eisen 600 Atome Kohlenstoff, somit wenigstens 600 Atome Kohlenstoff in einem Molecül enthält. Das Haemoglobin ist also unvergleichlich viel complicirter als alle uns bisher bekannt gewordenen chemischen Verbindungen. Die angeführte Grösse aber ist eine Minimalzahl. Sie ist aus der Voraussetzung berechnet worden, dass das Haemoglobin nur ein Atom Eisen im Molecül enthält. Diese Voraussetzung aber ist widerlegt, sobald es sich herausstellt, dass zwischen dem Eisengehalt und dem Gehalte an einem anderen Elemente kein einfaches Aequivalentverhältniss besteht. Sollte es sich zeigen, dass auf ein Atom Eisen nicht eine ganze Zahl von Schwefelatomen kommt, sondern eine ganze Zahl und ein Bruch, so müsste die Grösse des ganzen Haemoglobin-Molecüls mit dem Nenner dieses Bruches multiplicirt werden. Wir würden also gezwungen werden, uns dieses Molecül noch weit grösser zu denken. Es ist daher von hohem Interesse, den Eisen- und

Schwefelgehalt des Haemoglobins genau festzustellen. Wir würden dadurch einen Einblick in die Grösse und Complicirtheit der Eiweissmolecüle gewinnen. Die bisherigen Analysen des Haemoglobins haben in Bezug auf den Eisen- und Schwefelgehalt sehr abweichende Resultate ergeben und kein einfaches Verhältniss zwischen beiden Elementen. Ja es ist auf Grund dieser Thatsache sogar die Vermuthung ausgesprochen worden, das Haemoglobin sei überhaupt kein chemisches Individuum, das eisenhaltige Haematin sei nur mechanisch von dem krystallisirenden Eiweisskörper mitgerissen. \*).

Sollte durch genauere Analyse das einfache Aequivalentverhältniss zwischen Eisen und Schwefel sich feststellen lassen, so wäre damit dieses Bedenken widerlegt und die chemische Individualität des Haemoglobins bewiesen. Auch aus diesem Grunde ist eine genaue Bestimmung der Elemente von Wichtigkeit.

In der folgenden Tabelle stelle ich die Resultate der Bestimmungen zusammen :

---

\*) Lehmann, Lehrbuch der physiolog. Chemie 1850 II pg. 175. Struve (Erdmann's Zeitschrift f. pract. Chem. 1884. Hft. 7 u. 8) stellte, indem er den in Alcohol gehärteten Haemoglobin-crystallen durch ammoniakhaltigen Alcohol einen eisenhaltigen Stoff (das Haematin) entzog, fast farblose Krystalle dar, die diese Behauptung unterstützen sollten. Weder er noch auch ich, der ich diesen Versuch nachgemacht habe, konnten jedoch diese Krystalle umkrystallisiren.

	Autoren.	S %	Fe %	Menge des eingeseicherten		
				Auf 1 Atom Fe kommen S n. Mittelwrth.	Haemoglobins für S. für Fe.	
Hundeblut.	Schmidt . . .	0,66	0,43	2,686	1,6637	1,6637
	Hoppe-Seyler .	0,375	0,45	1,60	1,9972	1,7062
	„ . . .	0,448	0,42		1,4033	2,5122
	„ . . .	0,359	0,42		1,8915	4,7855
Pferdeblut.	Bücheler . . .	0,6532	0,46370		1,8481	0,9430
	„ . . .	0,6443	0,47238	2,427	1,8132	
	„ . . .		0,46720			
	Kossel . . . .	0,65	0,47	2,42		
	Otto . . . . .	0,67	0,45	2,60	2,4876	4,0866

Diese Verhältnisse waren es, welche an zwei Möglichkeiten denken liessen:

1. konnte das von den genannten Autoren analysirte Präparat unrein gewesen sein.

2. konnten die analytischen Methoden Fehlerquellen darbieten und die Mengen der angewandten Substanz zu einer genauen Bestimmung zu gering sein.

Ich stellte mir daher die Aufgabe:

1. ein Präparat darzustellen, das von Jedermann als rein anerkannt werden musste.

2. nach sorgfältiger Prüfung der zu Gebote stehenden analytischen Methoden dieses Präparat zu analysiren.

### Darstellung des Haemoglobins.

Hoppe-Seyler schreibt vor\*): Zur Darstellung des Haemoglobins zunächst die Blutkörperchen vom Serum zu trennen.

\*) Hoppe-Seyler medicin.-chemische Untersuchungen, Heft II., pg. 170. Berlin 1867.

Zu diesem Zwecke wird das defibrirte Blut durchgeseiht und eine zeitlang stehen gelassen, damit die Blutkörperchen sich im Serum senken können. Die über den Blutkörperchen stehende Flüssigkeit giesst man ab und versetzt den Blutkörperbrei mit einer Kochsalzlösung, welche ihn vom Serum-eiweiss befreien soll; durch Abstehenlassen und Decantiren entfernt man den grössten Theil der Chlornatriumlösung. Hoppe-Seyler fügt aber auch in derselben Arbeit hinzu, dass „die Reinigung der Blutkörper auf diese Art keine leichte sei. Die sich im Serum leicht senkenden Blutkörperchen senken sich in der Kochsalzlösung sehr schwer.“ In der That brauchen sie eine lange Zeit, um bis zum Boden des Gefässes zu gelangen; es dauert 3 bis 5 Tage bis die Senkung eine einigermaassen vollständige ist, nach 3 Tagen aber nehmen die Blutkörperchen, trotzdem dass man in der Kälte operirt, eine venöse Farbe an und es tritt die Gefahr der Zersetzung ein. Es erscheint daher wünschenswerth, das Auswaschen der Blutkörperchen zu umgehen. Es liesse sich ja annehmen, dass ein Theil des Serumeiweisses in dem Blutkörperbrei zurückbleiben könne, ohne der, später zu erfolgenden, Zerlegung der Blutkörperchen, der Krystallisation des Oxy-Haemoglobins und der Reinigung der Krystalle hinderlich zu sein. Darauf musste der Versuch antworten.

1 Volumen Serum, 3 Vol. Wasser und 1 Vol. Alkohol gemischt trübten sich kaum. Es blieben also die Serumbestandtheile gelöst. Daraus folgere ich, dass man den Blutkörperbrei, ohne zu waschen, in Arbeit nehmen kann. Oxy-Haemoglobinkrystalle und Serumbestandtheile können dann später durch wiederholte Krystallisation getrennt werden. Wie sich später zeigen wird, beeinträchtigt die Modification der Vorschrift die Reinheit des Präparates nicht.

Es folgt nun die Trennung des Haemoglobins vom Stroma; auch hier mussten Versuche den richtigen Weg zeigen. Verdünnt man den Blutkörperbrei mit dem 3-fachen Volum destillirten Wassers und erwärmt auf 35° C., so wird die Flüssigkeit lackfarben, eine Indication, dass das Oxy-Haemoglobin sich gelöst hat; die Stromata mussten jetzt als farblose Scheiben in der Flüssigkeit suspendirt sein.

Da man nun weiss, dass diese Scheiben durch Filtration nicht zu entfernen sind, dass sie ferner den O.-Haemoglobinkrystallen hartnäckig anhaften, so ging ich darauf aus sie aufzulösen.

Behandelt man die lackfarbene auf 35° C. erwärmte Flüssigkeit mit einer sehr kleinen Menge Ammoniak, so lösen sich die Stromata auf; verzetzt man jetzt eine Probe der Flüssigkeit mit einer concentrirten Lösung schwefelsauren Natrons und etwas Schwefelsäure, so sieht man mikroskopisch keine Stromata mehr. Das Ammoniak, dessen Menge man sehr genau kennen muss, wird dann mit der ihr entsprechenden Menge sehr verdünnter Salzsäure genau neutralisirt, weil das Haemoglobin aus ammoniakalischer Lösung nicht krystallisirt \*).

Das gleiche Resultat kann bekanntlich auch durch Aethylaether erreicht werden. Nach meinen Erfahrungen genügen dazu weit geringere Mengen als Hoppe-Seyler in seiner Vorschrift angiebt: 30 CC. Aether reichen hin, das Stroma von 9 Liter Blut aufzulösen.

---

\*) Ich verdanke diese Methode der Lösung des Stroma einer mündlichen Mittheilung meines verehrten Lehrers Dr. A. Schmidt; sie ist bisher nicht publicirt worden.

Nach dieser Manipulation haben wir eine unreine wässrige Lösung von O.-Haemoglobin vor uns; es gilt aus derselben das O.-Haemoglobin durch Krystallisation zu gewinnen. Zu diesem Zweck kühlt man die Flüssigkeit bis nahezu 0° ab, versetzt sie mit  $\frac{1}{4}$  Vol. absol. Alkohol und lässt bei 0° krystallisiren \*). Schon nach 24 Stunden hat sich die Flüssigkeit in einen dicken Krystallbrei verwandelt; zweckmässig lässt man diesen noch 48 Stunden stehen, die Krystalle vergrössern sich und können dann die Poren des Filtrums, das Mutterlauge und Krystalle trennt, nicht verstopfen. Die Krystalle müssen nun mit einer auf 0° abgekühlten Mischung von 1 Theil absoluten Alkohol und 4 Th. Wasser ausgewaschen werden, was man nach zahlreichen von mir ausgeführten Versuchen am besten so bewerkstelligt, dass man den Krystallbrei mit dem 3-fachen Volum der Mischung übergiesst, aufrührt, abstehen lässt und dann decantirt. Behufs weiterer Reinigung wird der Krystallbrei in dem 3-fachen Vol. destillirten Wassers bei 35° C. aufgelöst, die Lösung filtrirt und nach Zusatz von Alkohol, in der schon früher erwähnten Weise umkrystallisirt.

Wie oft soll man die Krystalle waschen und umkrystallisiren, um ein absolut reines Präparat zu erhalten?

Auch zur Beantwortung dieser Frage wurden eine Anzahl von Versuchen gemacht.

---

\*) Hoppe-Seyler nimmt in seiner Vorschrift dieselbe Quantität 80% Alkohols.

Es wurde, wie oben beschrieben, eine Anfangs unreine O.-Haemoglobinlösung dargestellt und das daraus erhaltene Krystallisationsproduct noch zweimal umkrystallisirt. Von jedem Krystallisationsproduct wurde ein Theil analysirt, ebenso von jeder Mutterlauge. Als Controle für die Reinheit des Präparates und der Mutterlauge diente die Bestimmung des Eisengehaltes derselben.

In Mutterlauge und Krystallen differirte der Procentgehalt des Eisens beim I. Product um 0,0764, beim II. um 0,0376, beim III. Product enthielten sowohl Mutterlauge als auch Krystalle fast gleiche Quantitäten Eisen. Ich gebe die Zahlenbelege hierfür im analytischen Abschnitt der Arbeit.

Nachdem ich gefunden hatte, auf welche Weise reine Krystalle zu erhalten seien, musste studirt werden, wie sie getrocknet werden sollen.

Hoppe-Seyler \*) schreibt vor, die Krystallmasse bei 0° im Vacuum zu trocknen. Ich habe ein Präparat im Vacuum bei möglichst niedriger Temperatur zu trocknen versucht; das Trocknen von 50 gm. O.-Haemoglobin nahm 2 Monate in Anspruch. Der Versuch belehrte mich abermals, dass man den Krystallbrei, recht dünn in flache Schalen vertheilt, bei 18 bis -20° C. in 8 Stunden so trocknen kann, dass das Präparat sich nicht zersetzt.

Das so getrocknete O.-Haemoglobin löst sich klar in Wasser, die Lösung giebt spectral-analytisch untersucht, das reine Oxy-Haemoglobinspectrum und wird von basisch essig-

---

\*) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Heft II., pg. 170.



saurem Bleioxyd nicht gefällt — ein Zeichen, dass sich kein Methaemoglobin gebildet hat. Wurde das Präparat bei 40° C. weiter getrocknet, so löste es sich schwer und nicht ganz vollständig in Wasser.

Diese Vorstudien hatten die Methoden zur Darstellung des O.-Haemoglobins klargelegt; es konnte nun zur Herstellung mehrerer Präparate geschritten werden. Ich habe davon im Ganzen drei angefertigt, bei jedem derselben gebe ich die Darstellungsweise an. Anzuführen ist noch, dass ich zu allen Praeparaten Pferdeblut angewandt habe, weil dessen Blutkörperchen sich leichter senken, grosse Mengen davon erhalten werden können, und das Haemoglobin leicht krystallisirt.

#### Praeparat I.

20 Liter Pferdeblut (Blut von 2 Pferden) werden zu je 10 Liter defibrinirt und dann in die Kälte gestellt, wo sich nach drei Stunden die Blutkörperchen bis auf  $\frac{1}{4}$  des Volums gesenkt haben. Das Serum wird dekantirt, der Blutkörperbrei mit dem 8-fachen Volum einer 2% Kochsalzlösung übergossen, aufgerührt und bei Seite gestellt. Nach 3 Tagen nehmen die Blutkörper das unterste Viertel des Gefässes ein. Die Kochsalzlösung wird nun dekantirt, der Blutkörperbrei mit dem 3-fachen Volum destillirten Wassers vermischt und auf 35° C. erwärmt. Der noch nicht lackfarbenen Flüssigkeit werden nun 16 C. C. einer titrirten  $\frac{1}{10}$  normalen Ammoniakflüssigkeit allmählich unter Umrühren zugesetzt. Nach fünf Minuten ist die Flüssigkeit lackfarben. Das Ammoniak wird nun durch ein entsprechendes Quantum titrirter, sehr verdünnter Salzsäure allmählich und vorsichtig neutralisirt, und die Flüssigkeit möglichst rasch abgekühlt (die Erfahrung belehrte mich, dass sich

bei langsamem Abkühlen Methaemoglobin bildet). Der bis nahe 0° abgekühlten Flüssigkeit wird auf 0° abgekühlter absoluter Alcohol auf je 4 Vol. 1 Vol. zugesetzt, und das Ganze in eine Kältemischung aus Kochsalz und Eis gestellt. Nach drei Tagen werden die Krystalle von der Mutterlauge getrennt, mit einer auf 0° abgekühlten Mischung aus 4 Vol. Wasser und 1 Vol. Alcohol 2 mal gewaschen, dann in dem 3-fachen Volum Wasser von 35° C. gelöst, die Lösung filtrirt, abgekühlt, mit Alcohol versetzt und wieder in die Kältemischung gestellt. Die resultierenden Krystalle werden noch 2 mal derselben Reinigungsprocedur unterworfen und dann unter der Luftpumpe getrocknet.

Ausbeute: ca. 200 Grmm.

### Praeparat II.

In Arbeit genommene Menge Pferdeblut 10 Liter. Die nach dem Defibriniren durch Abstehen und Dekantiren gewonnenen Blutkörperchen werden nicht mit Chlornatriumlösung behandelt, sondern sofort mit dem 3-fachen Volum Wassers von 35° C., darauf mit Ammoniak versetzt und wie Präparat I behandelt bis zur Gewinnung reiner Krystalle. Ausbeute 520 Grmm.

Die zu Präparat I angewandten 20 Liter Blut gaben, wie wir gesehen haben, bloss 200 Grmm. Haemoglobin. Hier geben 10 Liter 520 Grmm. Ich glaube, dass das Waschen mit Kochsalzlösung die Ausbeute verringert.

### Praeparat III.

Die Blutkörperchen aus 9 Liter Pferdeblut werden wie bei dem vorigen Präparat ohne Anwendung von Kochsalzlösung vom Serum möglichst befreit. Der Blutkörperbrei wird in

3 Vol. Wasser gebracht, auf 35° C. erwärmt, abgekühlt und dann mit 30 C. C. Aether versetzt. Die klare Lösung wird mit  $\frac{1}{4}$  Vol. Alcohol versetzt. Die resultirenden Krystalle werden wie früher durch 2-maliges Umkrystallisiren gereinigt. Proben eines jeden der 3 Krystallisationsproducte und der zu ihnen gehörigen Mutterlaugen wurden auf ihren Eisengehalt geprüft.

Dieses Präparat erwies sich als das reinste von den dreien. Die Asche enthielt kaum eine Spur von Chlor. Nach dem Einäschern von ca. 2 Grmm. mit kohlensaurem Natron gab die salpetersaure Lösung der Asche mit Silbernitrat nur eine eben wahrnehmbare Opalescenz. Alkalien liessen sich in der Asche nicht nachweisen. Phosphor liess sich zwar mit Sicherheit nachweisen, quantitativ aber nicht bestimmen; aus der Asche von 23,6 grm. Haemoglobin wurde nur eine unwägbar Menge von pyrophosphorsaurer Magnesia erhalten: beim Versuch dieselbe zu wägen wurden 0,0021. gefunden. Kalk und Magnesia waren in noch weit geringeren Spuren in dieser Asche nachweisbar.

Das Präparat I enthielt deutliche Spuren von Chlor, keine Alkalien; Kalk und Magnesia waren in der Asche von 60,8006 in quantitativ nicht bestimmbarer Menge enthalten, etwas grösser war die Menge des Phosphors, die angegebene Asche lieferte 0,0223 pyrophosphorsaurer Magnesia = 0,0143  $P_2 O_5$  = 0,0235%  $P_2 O_5$ .

Am wenigsten rein war das Präparat II. Dasselbe enthielt, wie aus weiter unten anzuführenden Zahlenbelegen hervorgeht 0,0401 %  $P_2 O_5$ , 0,0097 CaO, 0,0131 % MgO.

Alle Präparate sind, als sie noch feucht waren, auch microscopisch untersucht worden. Es liessen sich auf diesem

Wege nicht einmal Spuren von Verunreinigungen nachweisen; die Contouren der Krystalle waren scharf und gradlinig, nicht ausgefranst oder angebohrt, wie es bei den durch Stromata verunreinigten der Fall zu sein pflegt.

### Methoden der Eisenbestimmung.

Die Methoden der Eisenbestimmung gehören zu den zuverlässigsten und schärfsten welche wir besitzen. Dennoch hielt ich es nicht für überflüssig die Genauigkeit der Ausführung dieser Methoden dadurch zu prüfen, dass die Resultate der Titrirung mit Chamaeleonlösung durch die Gewichtsanalyse controlirt wurden. Mein verehrter Lehrer Dr. G. Bunge hatte die Freundlichkeit, die Gewichtsanalysen auszuführen.

Zu jeder Bestimmung wurde eine grosse Menge O.-Haemoglobin, in einem Falle sogar 60 Gramm verwandt. Der Fehler musste also ein sehr kleiner werden. Die Reagentien waren sämtlich eisenfrei.

Zum Titriren wurde das Haemoglobin in Platinschalen eingäschert, die Asche in Salzsäure gelöst, die salzsaure Lösung fast zur Trockne eingedampft, mit Schwefelsäure aufgenommen, in der bekannten Weise mit Zink reducirt und dann titirt. Der Titre wurde auf met. Eisen gestellt.

Bei der Gewichtsanalyse wurde folgendermaassen verfahren: Einäschern des Haemoglobins, Lösen der Asche in Salzsäure; diese wird mit Ammoniak abgestumpft, dann Zusatz von essigsaurem Ammon, (Flüssigkeit dabei nur schwach sauer) Erwärmen bis essig- und phosphorsaures Eisen geronnen. Heiss filtrirt, mit heissem essigsaurem Ammon durchge-

waschen, Verbrennung des Filtrums, Glühen und Wägen. Das Gewogene zeigt die Menge des Eisenoxyds + Phosphorsäure. Auflösen des Gewogenen in Salzsäure, Versetzen der Lösung mit Weinsäure, darauf mit Ammoniak, Fällung des Eisens mit Schwefelammonium, Überführung des Schwefeleisens in der bekannten Weise in Eisenoxyd und Wägung dieses Niederschlages. In derselben Asche wurden zugleich auch die Phosphorsäure, der Kalk und die Magnesia bestimmt. Aus dem Filtrat vom Schwefeleisen wurde die Phosphorsäure mit Magnesiamixtur ausgefällt. Aus dem Filtrat vom basisch essigsäuren und phosphorsäuren Eisenoxyd wurde durch Uebersättigen mit Ammoniak und Zusatz von oxalsaurem Ammon der Kalk ausgefällt; das Filtrat vom oxalsauren Kalk wurde eingedampft, die Ammoniaksalze vertrieben, der geringe Rückstand in Salzsäure gelöst und aus dieser Lösung mit Ammoniak und phosphorsaurem Ammon die Magnesia ausgefällt.

### Resultate der Eisenbestimmung.

Praeparat I.	Titration.	a. 0,336%
		b. 0,337%
		c. 0,334%

Gewichtsanalyse von Dr. Bunge 0,330%

Praeparat II.	Titrat.	a. 0,327%
		b. 0,327% (ausgef. v. Dr. Bunge.)

Gewichtsanalyse von Dr. Bunge 0,325%

Praeparat III.

Mutterlaugentrockenrückstand: Krystallisationsproducte.

a. 0,228%

a. 0,305% (unrein.)

b. 0,2966%	b. 0,334% <sub>0</sub> .1 m. umkrystallisirt.	
c. 0,347%	c. 0,334% <sub>0</sub>	} 2 mal um- krystallisirt.
	d. 0,338% <sub>0</sub>	
	e. 0,337% <sub>0</sub>	
Dr. Bunes Gewichtsanalyse 0,333% <sub>0</sub>		

## Zahlenbelege:

## für Praeparat I.

- a. 9,8622 Gramm Substanz verbrauchen 35,40 CC.  
Chamaeleonlösung, Titre 0,000935.  
Fe pro CC. = 0,3356%<sub>0</sub> Fe.
- b. 9,6106 Gramm Substanz verbrauchen 34,60 CC.  
Chamaeleon, Titre 0,000935.  
Fe pro CC. = 0,3366%<sub>0</sub> Fe.
- c. 20,5889 Gramm Substanz verbrauchen 71,60 CC.  
Chamaeleon, Titre 0,00096.  
Fe pro CC. = 0,3338%<sub>0</sub> Fe.  
Gewichtsanalyse: 60,8006 Haemoglobin  
geben 0,2866 Fe<sup>2</sup> O<sup>3</sup> = 0,3300%<sub>0</sub> Fe.

## Zu Praeparat II.

- a. 21,6980 Gramm Substanz verbrauchten 74,00 CC.  
Chamaeleon, Titre 0,00096.  
Fe pro CC. = 0,3274%<sub>0</sub> Fe.
- b. 22,3837 Gramm. Substanz verbrauchten 76,20 CC.  
Chamaeleon Titre 0,00096.  
Fe pro CC. = 0,3268%<sub>0</sub> Fe.  
Gewichtsanalyse: 45,2511 O. Haemoglobin  
geben 0,2100 Fe<sup>2</sup> O<sup>3</sup> = 0,325%<sub>0</sub> Fe.

$0,0290 \text{ Mg. P.}^2 \text{ O}^7 = 0,0186 \text{ P.}^2 \text{ O}^5 = 0,0409\%$  P<sup>2</sup> O<sup>5</sup>  
 $0,0165 \text{ Mg. P.}^2 \text{ O}^7 = 0,005946 \text{ Mg. O} = 0,0131\%$  Mg.O  
 $0,0107 \text{ CaS. O}^4 = 0,0044058 \text{ CaO.} = 0,011\%$  CaO.

Zu Praeparat III.

- a. 22,1770 Gramm Trockenrückstand aus der  
I. Mutterlauge verbrauchen 53,00 CC.  
Chamaeleon, Titre 0,000955 = 0,2283% Fe.
- b. II. Mutterlauge: 20,3522 Gramm Trockenrück-  
stand verbrauchen 63,20 CC. Chamaeleon,  
Titre 0,000955 = 0,2966% Fe.
- c. III. Mutterlauge: 4,9855 Gramm Trockenrück-  
stand verbrauchen 18,50 CC. Chamaeleon,  
Titre 0,000935. = 0,34699% Fe.

### K r y s t a l l e.

- a. I. Krystallisationsproduct :  
22,5587 Gramm brauchen 71,60 CC. Chamaeleon, Titre  
0,00096 = 0,3047% Fe.
- b. II. Krystallisationsproduct :  
19,8790 Gramm brauchen 69,60 CC. Chamaeleon, Titre  
0,000955 = 0,3343% Fe.
- c. III. Krystallisationsproduct :  
10,2323 Gramm brauchen 36,20 CC. Chamaeleon, Titre  
0,000944 = 0,3339 % Fe.
- d. 12,6274 Gramm verbrauchen 45,60 CC. Chamaeleon, Titre  
0,000935 = 0,3376% Fe.

e. 9,4898 Gramm verbrauchen 34,20 CC. Chamaeleon, Titre  
 $0,000935 = 0,3369\%$  Fe.

Gewichtsanalyse: 23,6116 Gramm geben 0,1127 Gramm.  
 $\text{Fe } ^{20^2} = 0,3330\%$  Fe.

Wie der Leser sehen wird, stimmen die Zahlen leidlich mit einander, aber ganz und garnicht mit denen der übrigen Autoren. Dass das Praeparat I u. III tadellos rein sei, glaube ich durch die Schilderung der Darstellung und Eigenschaften derselben bewiesen zu haben. Für die Accuratesse der Analysen bürgt dem Leser schon der Umstand, dass Dr. Bunge und ich zu gleichen Resultaten gekommen sind und dass die Gewichtsanalyse dieselben Zahlen ergeben hat, wie die Titration. Ich habe also Grund genug meine Zahlen als die richtigen anzusehen.

#### Bestimmung des Schwefels.

Wenn man sich die Schwefelbestimmungen, besonders die am Casein ausgeführten, ansieht, wenn man dabei erfährt, wie sehr die Angaben der einzelnen Forscher auseinander gehen, wie die Autoren, um die eigenen Zahlen als die richtigen hinzustellen, einander beschuldigen unreine Niederschläge gewogen zu haben etc. so wird es sofort klar, dass die Differenzen nicht von der Ungenauigkeit der Ausführung herrühren können, sondern dass wahrscheinlich die Methoden der Schwefelbestimmung Fehlerquellen mit sich bringen müssen. Es kommt vor Allem darauf an, die organische Substanz so zu zerstören, dass aller Schwefel an die Asche gebunden wird. Dieses ist auf die verschiedenste Weise versucht worden, aber immer und

immer wieder ist man auf eine alte Methode, die des Schmelzens mit Salpeter u. Aetzkali zurückgekommen. Aus den früheren Analysen entnehmen wir, dass das O.-Haemoglobin 0,65% Schwefel enthält, dass man folglich, um genügende Mengen eines schwefelhaltigen Niederschlages zu erhalten, grössere Quantitäten in Arbeit nehmen muss. Die Berechnung zeigte dass 10.0 Substanz genügen würden.

Die Substanz musste nun zerstört werden. Wieviel man dazu Aetzkali u. Salpeter braucht, musste der Versuch lehren. Nach mehrfachen Versuchen ergab es sich, dass eine Mischung von 1 Th. Haemoglobin mit 7 Th. Salpeter u. 3 Th. Aetzkali ruhig, ohne Flammenerscheinung, schmolz und vollständig verbrannte. Die Schmelze war weiss mit einem Stich ins Gelbliche; die Färbung rührte vom Eisen her. Am geeignetsten erwies es sich, das O.-Haemoglobin in der Lösung des Aetzkali zu lösen, dann den Salpeter zuzusetzen, auf dem Dampfbad in einer Silberschale einzudampfen und zu schmelzen. Ich muss hier über eine Erfahrung berichten, die wohl von Jedermann bei Verbrennung solcher Substanzen gemacht, aber von Niemand in der Literatur mitgetheilt worden ist. Beim Erhitzen des Gemenges von Salpeter, Aetzkali und einer Eiweisssubstanz entwickeln sich, bevor die Verbrennung eintritt, penetrant stinkende Gase. Es lag nahe zu denken, dass mit diesen Gasen ein Theil des Schwefels in die Luft ginge. Das ist aber nicht der Fall. Ich habe ein Gemisch von O.-Haemoglobin und Aetzkali in einem Kolben erhitzt, die Destillationsproducte in Königswasser aufgefangen und analysirt; es war kein Schwefel darin.

Das Resultat der Schmelze war eine geringe Menge schwefelsauren Kalis in mehr als 100 Gramm einer Salzmasse, welche aus Salpeter, salpetric-saurem Kali

und kohlenurem Kali bestand. Die grosse Salzmenge musste ein wenig erschrecken. Es war vorauszusehen, dass die Fällung des Schwefels als schwefelsaurer Baryt in wenigstens einem Liter Flüssigkeit vorgenommen werden musste.

Behandelt man, wie das Hammarsten \*) mit dem Casein gethan das O.-Haemoglobin mit conc. Salpetersäure in der Wärme, so wird ein Theil davon zerstört. Es entweicht Kohlensäure, das Uebrige löst sich in der Säure zu einer klaren, gelblichen Flüssigkeit, welche abgedampft einen gelben Rückstand hinterlässt. Dieser kann nun mit weniger Salpeter u. Aetzkali geschmolzen werden. Es resultiren kleinere Salzmassen.

Aus der Auflösung der Schmelze sollte nun der Schwefel als schwefelsaurer Baryt ausgefällt, die Flüssigkeit dazu aber erst vorbereitet werden. Löst man die Schmelze auf, so kann man das in ihr suspendirte Eisen durch Filtration entfernen. Man muss es thun, weil es bei den weiteren Operationen in die Lösung übergeht, vom Barytniederschlag mitgerissen wird und daher das Gewicht des Niederschlages vergrößert. Man muss ferner alles Alkali in Chlorid verwandeln und zwar müssen in erster Linie die Salze der Salpeter- und salpetrigen Säure zerstört werden, weil bekanntlich der Barytniederschlag diese Salze mit sich niederreisst. Dazu muss man die Salzmasse 3 bis 5 Mal mit concentr. Salzsäure abdampfen. Von der vollständigen Zersetzung der genannten Salze habe ich mich bei jeder Analyse überzeugt, indem ich kleine Proben der mit Salzsäure behandelten Salzmasse mit Schwefelsäure ansäuerte und nach Zusatz von Jodkaliumstärkekleister mit Zink behandelte. Färbte sich die Stärke nur schwach bläu-

\*) Ztschr. für physiol. Chemie Bd. IX. Heft 3. früher Bd. VII. Heft 3.

lich, so musste das Abdampfen mit Salzsäure wiederholt werden. Es resultirte nun eine Menge von Chlorkalium in der sich eine kleine Quantität von schwefelsaurem Kali befand und blieb noch zu untersuchen, welchen Einfluss eine Chlorkaliumlösung von bekannter Concentration auf das Resultat der Analyse haben könnte. 0,1980 Grm. schwefelsauren Natrons, 5 CC 25% Salzsäure und 50 Grm. Chlorkalium wurden in 500 CC. Wasser gelöst mit einer Lösung von 0,62 Grm. Chlorbaryum heiss versetzt, der Niederschlag in üblicher Weise gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen. Dieser Versuch wurde zweimal wiederholt.

I	Gewogenes Baryumsulfat	0,3220
II	„ „ „	0,3240

daraus berechnet sich in :

I	0,04422 Grm. S. und in
II	0,04450 Grm. S.

die theoretisch berechnete Menge beträgt 0,04458 Grm. S.

Wie bei diesen Versuchen habe ich mich auch bei allen späteren Bestimmungen einer mir bekannten Menge von  $BaCl^2$  bedient : ebenso war die Menge der  $ClH$  mir bekannt. Ich nahm mir bekannte Mengen von beiden Reagentien, weil  $BaCl^2$  in zu grossem Ueberschuss zugesetzt, in den Niederschlag geht, ein grösserer Ueberschuss von  $ClH$  aber den  $Ba SO^4$  löst. Chlorkalium konnte, wie wir gesehen haben, kaum schaden. Hinzuzufügen bleibt noch, dass weder Digeriren des geglühten Niederschlages mit Salzsäure, noch Aufschliessen und abermaliges Fällen das Gewicht erheblich veränderten. Die angewandten Reagentien waren schwefelfrei: von der Salz- und Salpetersäure wurden grosse Quantitäten eingedampft, in den

Rückständen liess sich keine Schwefelsäure nachweisen. 10 Grm. des Aetzkali wurden mit 10 grm. Salpeter zusammengeschmolzen, die Schmelze gelöst, mit Salzsäure schwach angesäuert und nach Zusatz von  $\text{BaCl}^2$  in die Wärme gestellt. Am folgenden Tage hatte sich nur eine unwägbare Spur schwefelsauren Baryts abgeschieden.

#### Resultate der Analysen:

Praep. I. ergab 0,3902% S.  
0,3916% „

Praep. II. ergab 0,3583 „ „  
0,3658 „ „

Praep. III. ergab 0,3899 „ „  
0,3881 „ „

#### Zahlenbelege.

Praep. I. 11,1325 Grmm. gaben 0,3163 Grmm.  $\text{BaSO}^4$   
= 0,3902% S.

10,9050 Grmm. Substanz gab 0,3110 Grmm.  
 $\text{BaSO}^4$  = 0,3916% S.

Praep. II. 10,5337 Grmm. gaben 0,2748  $\text{BaSO}^4$  =  
0,3583% S.

10,7855 Grmm. gaben 0,2873 Grmm.  $\text{BaSO}^4$   
= 0,3658% S.

Praep. III. 9,2346 Grmm. gaben 0,2622 Grmm.  $\text{BaSO}^4$   
= 0,3899% S.

9,6022 Grmm. gaben 0,2714 Grmm.  $\text{BaSO}^4$   
= 0,3881% S.

In dem Praep. III. als dem reinsten wurden auch der C. H. und N. bestimmt, um das Praep. mit dem anderer Autoren vergleichen und eine Formel des Haemoglobins berechnen zu können.

#### Bestimmung des C. und H.

Das Praep. bei 115° C. im Luftbade getrocknet, wurde wie gewöhnlich in einer Verbrennungsröhre mit vorgelegtem chromsaurem Bleioxyd, Kupferoxyd und einer 25 Cm. langen, im Wasserstoffstrome frisch ausgeglühten Kupferspirale, im Sauerstoffstrome verbrannt.

Es ergibt sich I. C. = 51,2909%

H. = 6,727 —

II. C. = 51,01 —

H. = 6,79 —

#### Zahlenbelege.

I. 0,5500 Grmm. gaben 1,0345 Grm. CO<sup>2</sup> und 0,3330 Grmm. H<sup>2</sup>O = 51,2909% C. und 6,7272% H.

II. 0,5952 Grmm. gaben 1,1133 Grmm. CO<sup>2</sup> und 0,3638 Grmm. H<sup>2</sup>O = 51,02% C. und 6,79% H.

#### Bestimmung des N.

Diese wurde nach der Will-Warrentrappschen Methode ausgeführt und ergab:

I. N. = 18,02%

II. — = 17,87%

## Zahlenbelege.

I. 0,4683 Grmm. gaben 0,5926 Grmm. Pt. =  
18,02% N.

II. 0,2751 Grmm. gaben 0,3452 Pt = 17,87% N.

Bei der folgenden Zusammenstellung sind die bei der Analyse des Praep. II. erhaltenen Resultate fortgelassen, weil, wie erwähnt, dieses Praep. weniger rein war.

Praeparat I.					Mittel.	
C.						
H.						
N.						
S.	0,3902	0,3916			0,3909	
Fe			0,336	0,337	0,330	0,334
O.						

Praeparat III.									Mittel.		
C.	51,29	51,01							51,15		
H.	6,73	6,79							6,76		
N.			18,02	17,87					17,94		
S.					0,3899	0,3881			0,3890		
Fe							0,334	0,338	0,337	0,333	0,3355
O.											

Mittel aus beiden.

C. 51,15, H. 6,76, N. 17,94, S. 0,3899, Fe 0,335, O. 23,4251.

Berechnen wir nun die Anzahl der Schwefelatome, die auf ein Atom Eisen kommen, so finden wir für das Präp. I:

$$\frac{0,3909}{0,334} = \frac{x \cdot 32}{56} = \frac{x \cdot 4}{7}, x = 2,04$$

für das Präparat III:

$$\frac{0,3890}{0,3355} = \frac{x \cdot 4}{7}; x = 2,02.$$

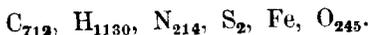
Im Mittel aus allen Bestimmungen:

$$\frac{0,3899}{0,3350} = \frac{x \cdot 4}{7}; x = 2,03.$$

Aus diesen Zahlen geht unzweifelhaft hervor, dass auf 1 Atom Fe genau 2 Atome S im Haemoglobin enthalten sind und dass das Haemoglobin ein chemisches Individuum ist.

Leider war es mir aus äusseren Gründen nicht vergönnt, die Menge des vom Haemoglobin locker gebundenen Sauerstoffs genau zu bestimmen, um zu entscheiden, ob auch dieses Element im einfachen Aequivalentverhältniss zum Fe steht.

Ich gebe schliesslich die aus den von mir gefundenen Werthen resultirende Formel des Haemoglobins:

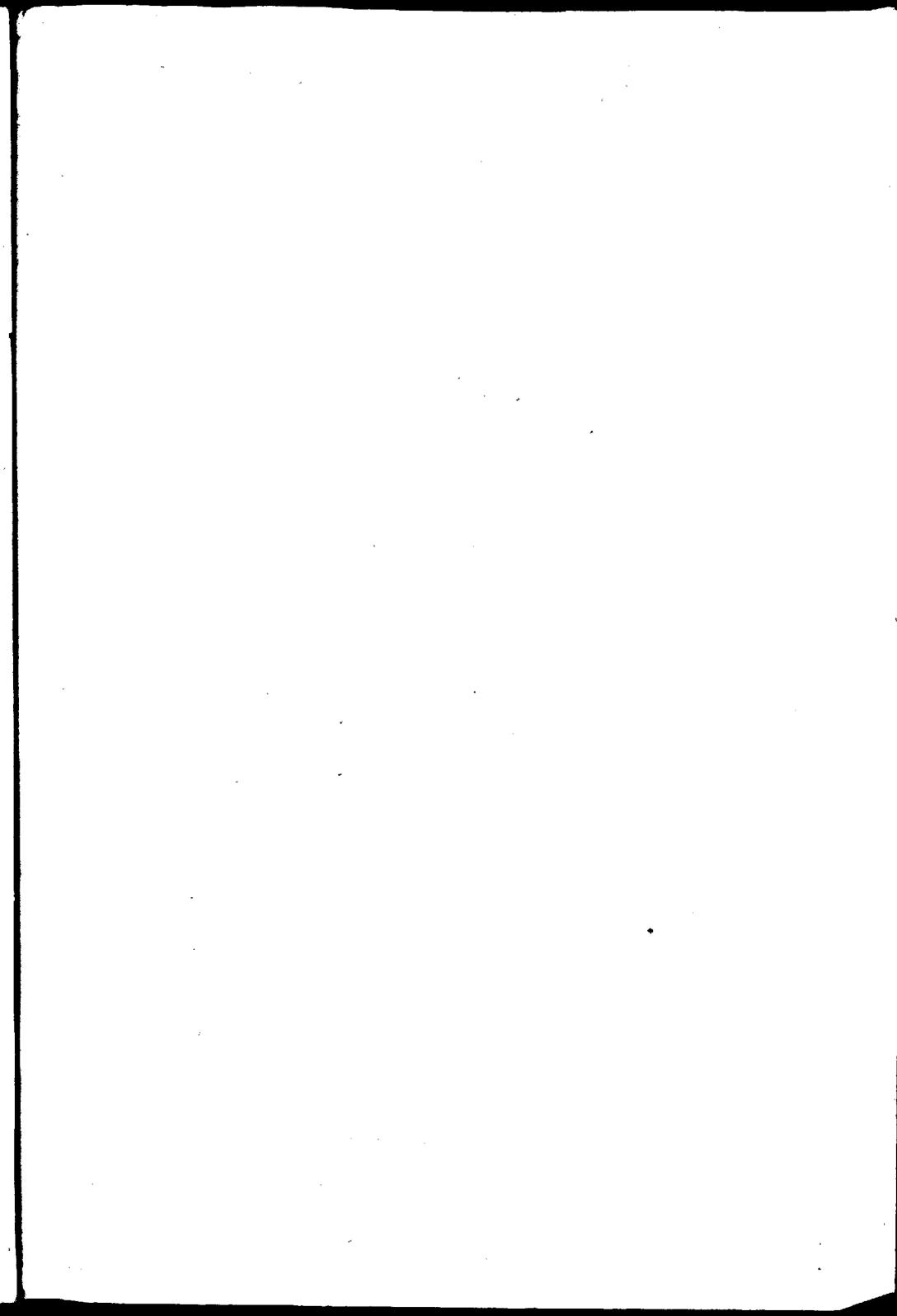


# Thesen.

---

1. Die „Fermente“ sind keine Stoffe sondern Bewegungsvorgänge.
  2. In den rothen Blutkörperchen ist ausser dem Hämoglobin und dem Paraglobulin des Stroma kein weiterer Eiweisskörper vorhanden.
  3. Die Existenz der Lieberkühnschen Drüsen im Darm lässt sich nicht negiren.
  4. Das Haemoglobin entsteht aus dem Haematogen unter Abspaltung von Phosphorsäure.
  5. Die Gefahr der Fettembolie bei Knochenbrüchen besteht darin, dass frisches Fett sich nicht emulsioniren lässt.
  6. Es giebt keinen Nährstoff der als specifische Harnsäurequelle anzusehen wäre.
  7. Leichenverbrennungen sind unnützlich.
  8. In der Kriegspraxis ist für die Desinfection von Kleidern und Stoffen, im Lager, der Schwefel zu empfehlen.
-

10786



1261