



# **Untersuchungen über den Sauerstofftransport durch Blutpigmente bei Helix, Rana und Planorbis**

<https://hdl.handle.net/1874/311501>

*H. qu. 192. 1932.*

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN  
SAUERSTOFFTRANSPORT DURCH  
BLUTPIGMENTE BEI HELIX, RANA  
UND PLANORBIS

H. P. WOLVEKAMP

Diss.  
Utrecht

1932

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.







UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN  
SAUERSTOFFTRANSPORT DURCH  
BLUTPIGMENTE BEI HELIX, RANA  
UND PLANORBIS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE  
AAN DE RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT  
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS,  
DR. L. S. ORNSTEIN, HOOGLEERAAR IN DE  
FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE,  
VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT DER  
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN  
VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-  
KUNDE TE VERDEDIGEN OP MAANDAG 1 FE-  
BRUARI DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

HENDRIK PIETER WOLVEKAMP  
GEBOREN TE ROTTERDAM

---

VERLAGSBUCHHANDLUNG JULIUS SPRINGER

IN BERLIN · 1932

BIBLIOTHEEK DER  
RIJKSUNIVERSITEIT  
UTRECHT.



AAN MIJN OUDERS



## V O O R W O O R D

Hel is voor mij meer dan een formaliteit, wanneer ik, aan het einde van mijn studietijd, allen, die aan mijn wetenschappelijke opleiding hebben deel gehad, hartelijk dank zeg.

Hooggeleerde PULLE, RUTTEN en ORNSTEIN, Uw colleges en practica hebben er veel toe bijgedragen om mijn inzicht in de natuurwetenschappen te verruimen.

Hooggeleerde KRUYT, Uw critische colleges hebben mij doen inzien hoe gevaarlijk een zonder meer toepassen van chemie en physica in de biologie is, terwijl zij tevens mijn belangstelling voor de niet biologische natuurwetenschappelijke vakken verhoogden. Aan het bij U gevolgd practicum denk ik met onvermengd genoegen terug.

Hooggeleerde WENT, met dankbaarheid denk ik terug aan Uw belangstelling voor moeilijkheden en vorderingen bij het werk van Uw practicanten.

Hooggeleerde NIERSTRASZ, Uw voordrachten gaven den jongen student reeds spoedig den moed biologische theorieën slechts met de noodige reserve te beschouwen. Dat ik mettertijd tot het inzicht kwam, dat wetenschap slechts een bescheiden plaats in het leven van een mensch kan en mag innemen, heb ik mede aan Uw critischen geest te danken.

Hooggeleerde JORDAN, hooggeachte Promotor, aan U in de eerste plaats heb ik het te danken, dat een wetenschap, die door zijn versplintering in vele onderdeelen voor mij tot een chaos geworden was, weer bekoring kreeg, doordat Gij eenheid wist te brengen in een schijnbaar verwarde massa feiten.

Van bijzondere waarde waren voor mij de jaren, waarin ik Uw assistent was. De omstandigheid, dat het persoonlijk initiatief, ook in een subalterne betrekking, in Uw laboratorium volkomen tot zijn recht komt, is niet genoeg te waardeeren. Ook in mijn tegenwoordige functie hoop ik nog vaak van Uw ervaring te mogen genieten. Uw persoonlijke omgang, en de door U en Mevrouw JORDAN betoonde gastvrijheid laten in mij een dankbare herinnering na.

Hooggeleerde SCHOORL, voor Uw medewerking, verleend door mij Uw spectro-colorimeter in bruikleen af te staan, ben ik zeer erkentelijk.

Zeergeleerde DE LANGE, U dank ik voor Uw welwillende hulp gedurende den tijd dat ik in Uw instituut werkte.

Veel heb ik ook aan U te danken Zeergeleerde HIRSCH: zoowel gedurende den tijd dat ik als assistent aan de morphologische afdeeling verbonden was, als ook later zijt Gij mij in alle opzichten behulpzaam geweest. Met bijzonder genoegen denk ik aan de hartelijkheid waarmee Gij en Mevrouw HIRSCH mij ten Uwen huize hebt ontvangen.

Zeergeleerde VONK, waarde POSTMA, de buitengewoon prettige samenwerking met U beiden gedurende mijn latere studiejaren geven aan dien tijd een bijzondere bekooring.

Zeergeleerde MINNAERT, een hartelijk woord van dank voor de door U belangeloos verstrekte hulp bij enkele moeilijkheden, ondervonden gedurende het bewerken van mijn proefschrift, is hier alleszins op zijn plaats.

Waarde PRIJS en BRETSCHEIDER, U dank ik voor de door U met zorg vervaardigde teekeningen.

Bij de uitvoering der proeven ondervond ik veel hulp van wijlen VAN NORDEN. Zijn hulpvaardigheid en toewijding hebben mij over vele moeilijkheden heen geholpen.

Ook U, waarde KREUGEL, heb ik veel te danken voor Uw bereidwillige hulp tijdens mijn werkzaamheid in het Zoölogisch Laboratorium.

### Inhaltsübersicht.

	Seite
Einleitung . . . . .	1
Kap. 1. <i>Helix</i> . . . . .	3
§ 1. Methoden und Technik	
§ 2. Versuchsergebnisse	
§ 3. Diskussion	
Kap. 2. <i>Rana</i> . . . . .	14
§ 1. Methodik	
§ 2. Versuchsergebnisse	
§ 3. Diskussion	
Kap. 3. <i>Planorbis</i> . . . . .	29
§ 1. Technisches	
§ 2. Versuchsergebnisse	
§ 3. Diskussion	
Zusammenfassung . . . . .	36
Literaturverzeichnis . . . . .	36

### Einleitung.

Die Sauerstoffversorgung der Gewebe größerer Tiere, die bis in die tieferen Körperteile nicht mehr durch einfache Diffusion stattfinden kann, wird bekanntlich ermöglicht durch die Anwesenheit eines mehr oder weniger komplizierten Blutgefäßsystems. Die Diffusion beschränkt sich dann auf das Eindringen des Sauerstoffes in die Blutgefäße oder Lakunen des Atmungsorgans und seine Aufnahme durch die Körperzellen, die vom Blute umspült werden. Die Sauerstoffkapazität des Blutes wird oft erhöht durch die Anwesenheit von Blutpigmenten. Das ist einmal der Fall bei Tieren mit einem hohen Sauerstoffbedürfnis, aber auch bei Tieren, die in einer sauerstoffarmen Umgebung leben, wo die Menge des physikalisch gelösten Gases klein, also auch die pro Sekunde den Geweben zugeführte Quantität gering ist.

Die Sauerstoffbindung durch Hämoglobin oder Hämozyanin ist reversibel und die Beziehung zwischen dem Sättigungsgrad des Blutpigments

und der Menge des physikalisch gelösten Sauerstoffs oder — da diese Größe nach dem HENRYschen Gesetz proportional dem Drucke des mit dem Blute in Berührung stehenden Gases ist — zwischen Sättigungsgrad und Sauerstoffpartiardruck in der Gasphase, wird angegeben durch die sogenannte Dissoziationskurve. Diese Kurve verläuft bei den Hämoglobin- und Hämocyandinarten verschiedener Tiere mehr oder weniger steil.

KROGH hat darauf hingewiesen, daß diese Tatsache eine biologische Bedeutung hat, indem Tiere, die bei niedrigem Sauerstoffpartiardruck leben, nur dann eine bedeutende Menge Sauerstoff mit Hilfe ihrer Blutpigmente transportieren können, wenn diese schon bei diesem geringen Druck größtenteils mit Sauerstoff gesättigt sind, mit anderen Worten, die Dissoziationskurven werden dann steil verlaufen müssen.

Andererseits müssen wir auch die Umstände, unter denen der Sauerstoff abgegeben wird, berücksichtigen, um die Bedeutung der besonderen Form verschiedener Dissoziationskurven verstehen zu können.

In einem von einigen Kapillarschlingen umgebenen Gewebstückchen wird die Menge des hineindiffundierenden Sauerstoffes u. a. abhängen von dem Druckunterschied des Gases in der Mitte und an der Peripherie. Bei einem gegebenen Sauerstoffverbrauch der Zellen wird also ein ganz bestimmter Spannungsunterschied bestehen müssen, wenn nicht in den zentralen Teilen des Gewebstückchens Sauerstoffmangel entstehen soll. Da nun der Sauerstoffdruck im Innern nur bis Null sinken kann, so besteht an der Peripherie ein minimaler Sauerstoffdruck, bei dem die Sauerstoffversorgung noch eben ausreicht. Bei diesem Druck müssen nun die Blutpigmente wenigstens den größten Teil ihres Sauerstoffs abgeben. Die eigenartige S-Form der Dissoziationskurve hat also, wie BARCROFT besonders betont, eine große biologische Bedeutung, indem die Sauerstoffabgabe bei viel höherem Druck stattfindet als dies der Fall wäre, wenn die Reaktion Hämoglobin  $\rightleftharpoons$  Oxyhämoglobin den Verlauf einer einfachen chemischen Reaktion mit hyperbolischer Kurve zeigte. Eine ähnliche Bedeutung hat die geringere Steilheit der Kurven des Hämoglobins von Tieren, die in sauerstoffreicher Umgebung leben.

Auch der Einfluß der Kohlensäure auf die Sauerstoffabgabe durch die Blutpigmente, die Geschwindigkeit des Blutstroms, und wie besonders KROGH untersucht hat, die Zahl und der Durchmesser der Kapillaren in den Geweben, sind von großer Bedeutung. In letzter Hinsicht sind die Verhältnisse bei den Wirbellosen, wo zumeist ein lakunäres Blutgefäßsystem vorliegt, weniger eindeutig und übersichtlich als bei den Wirbeltieren.

Zusammenfassend können wir also sagen, daß zum richtigen Verständnis der Sauerstoffversorgung der Gewebe eines Tieres untersucht werden müssen:

1. die Aufnahme des Sauerstoffs in den Atmungsorganen,
2. die Diffusion des Sauerstoffs in das Blut,
3. die Sauerstoffbindung durch Blutpigmente,
4. die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes unter verschiedenen Bedingungen und ihre Regulierung,
5. der Sauerstoffverbrauch der Gewebe,
6. die Durchblutung der Gewebe,
7. die Sauerstoffabgabe in den Geweben.

### I. *Helix*.

Nur für die Säugetiere liegen Untersuchungen über alle obengenannten Faktoren vor, während bei kaltblütigen Wirbeltieren und Wirbellosen bis jetzt noch keine Gesamtvorstellung möglich ist.

Jedoch sind in den letzten Jahren die Blutpigmente vieler Tiere untersucht worden. Dies gilt besonders von dem Blute Wirbelloser, das Hämözyanin enthält. Neben älteren spektroskopischen Arbeiten (u. a. von BOTAZZI u. DHÉRÉ) liegen über die Art der Sauerstoffbindung Untersuchungen vor von BEGEMANN, HOGBEN, PANTIN u. HOGBEN, E. u. E. STEDMAN, REDFIELD, COOLIDGE und HURD.

Das Ziel dieses Abschnittes der vorliegenden Untersuchung war die Bestimmung der Dissoziationskurve vom Blute der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*). BEGEMANN hat schon im Jahre 1924 diese Kurve zu bestimmen versucht. Dabei fand er, daß das Hämözyanin bei atmosphärischem Druck nur zu etwa 85% mit Sauerstoff gesättigt ist, und obendrein vermaßte er die für Säugerblut so typische Flexur, wodurch die Kurve S-förmig wird.

Da er das Blut aber nicht sehr niedrigen Sauerstoffspannungen aussetzte (er geht nur bis zu etwa 18 mm herunter), könnte es sein, daß ihm die Beugung der Kurve bei niederen Spannungen entgangen ist. Indessen besteht ein großer Unterschied zwischen der von ihm festgestellten Kurve und denjenigen, die von STEDMAN u. STEDMAN für einige *Crustacea*, und von REDFIELD, COOLIDGE und HURD für *Limulus*, *Busycon*, *Loligo* und *Cancer* gefunden wurden. Letztere Untersucher konnten sogar die bekannte von HILL für Säugerblut aufgestellte Formel

$$\frac{y}{100} = \frac{Kx^n}{1 + Kx^n},$$

zur genaueren Konstruktion der Dissoziationskurve benutzen.

Aber auch das Hämözyanin im mit Puffergemisch verdünnten und auch dialysierten Blute von *Helix pomatia* selbst, soll nach HOGBEN und PINHEY eine S-förmige Dissoziationskurve haben und obendrein bei einer Temperatur von 23,5° schon bei einem Sauerstoffpartiardruck von etwa 80 mm zu etwa 98% mit Sauerstoff gesättigt sein. Auf seine kolorimetrische Methode kommen wir weiter unten noch zurück.

Man könnte geneigt sein die Resultate von HOGBEN und von beiden STEDMAN, die so gut mit dem, was wir vom Hämoglobin und vom Hämözyanin der

Crustacea wissen, übereinstimmen, ohne weiteres anzunehmen; aber aus zweierlei Gründen schien eine Nachprüfung mit einer anderen Methodik doch nicht unerwünscht.

BEGEMANN hat die spezifische Sauerstoffkapazität von Hämözyanin bestimmt und dafür Werte von 172 bis 173 gefunden. Diese Zahlen stimmen sehr schön mit denjenigen überein, die man bei Berechnung erhält, wenn man annimmt, daß auf 1 Grammatom Cu, 1 Grammatom O gefunden wird:

$$\frac{1\text{ O}}{1\text{ Cu}} = \frac{11,197}{63,57} = 176,1.$$

Dieser Sättigungsgrad ist nach BEGEMANN aber nur zu erhalten, wenn man mit einem Gasgemisch, das wenigstens 50% Sauerstoff enthält, saturiert. Er hat dann seine Dissoziationskurve erhalten, indem er die relative Sättigung unter Berücksichtigung des Kupfergehalts und des gelösten Sauerstoffs berechnete.

Zweitens darf man sich in der vergleichenden Physiologie nicht verleiten lassen, Resultate, die gleiches Verhalten verschiedener Tiere zu beweisen scheinen, zu bevorzugen. Das Hämoglobin im Blute der Schildkröte *Pseudemys concinna* z. B. soll nach SOUTHWORTH und REDFIELD keine S-förmige Dissoziationskurve haben, also auch von der Norm abweichen.

Eine zweite Anregung zur genauen Bestimmung der Dissoziationskurve von *Helix*-Blut bildet die Tatsache, daß über die Atmung und die Herztätigkeit dieser Art neuere Untersuchungen angestellt wurden, so daß nach Feststellung der Dissoziationskurve nur noch Bestimmung des Sauerstoffgehaltes vom Blute einiger Gefäße ausgeführt werden müßten, um uns wenigstens einen vorläufigen Eindruck von der Sauerstoffversorgung im Schneckenkörper zu gewähren.

### § 1. Methoden und Technik.

BEGEMANN hat das Schneckenblut mit einem VAN SLIJKE-Apparat evakuiert und das Gas mit einer Gaspipette<sup>1</sup> analysiert. Daneben mußten Kupferbestimmungen ausgeführt werden, um den Sättigungsgrad des Hämözyanins feststellen zu können. Zuvor hatte er gefunden, daß bei maximaler Sättigung auf ein Atom Cu je ein Atom Sauerstoff gebunden wird. Außerdem müssen von den durch Entgasen gewonnenen Sauerstoffzahlen die Werte für die physikalisch gelöste Gasmenge abgezogen werden. Diese Werte bestimmte er an Blut, aus dem das Eiweiß durch Fällung entfernt worden war.

STEDMAN u. STEDMAN, REDFIELD, COOLIDGE und HURD gebrauchen ebenfalls den VAN SLIJKE-Apparat. Die Werte für den gelösten Sauerstoff werden extrapoliert auf Grund des Absorptionskoeffizienten. Dieser wurde dadurch erhalten, daß die Zunahme der vom Blute aufgenommenen Sauerstoffmenge bestimmt wurde, die sich ergab, wenn das mit atmosphärischer Luft gesättigte Blut hernach mit reinem Sauerstoff saturiert wurde. Es leuchtet ein, daß der Absorptionskoeffizient auf diese Weise nur *dann* bestimmt werden darf, wenn das Hämözyanin bei einem Sauerstoffpartiendruck von 160 mm schon ganz in Oxyhämözyanin verwandelt

<sup>1</sup> Siehe JORDAN (und HIRSCH).

ist. Dies soll nun nach BEGEMANN für das Hämocyandin von *Helix pomatia* aber *nicht* zutreffen. Also war diese Methode für mich nicht ohne weiteres brauchbar. Aber auch die Löslichkeitsbestimmungen am enteweißten Blute, wie sie von BEGEMANN ausgeführt wurden, könnten vielleicht zu unrichtigen Zahlen führen.

Schließlich war es überhaupt erwünscht, auch einmal eine andere Methode zu wählen, weil die Sauerstoffkapazität des *Helix*-Blutes ziemlich klein sein soll. Nach BEGEMANN ist die Menge des physikalisch gelösten Sauerstoffs bei atmosphärischem Druck fast ebenso groß als die des chemisch gebundenen. Die Genauigkeit der Bestimmungen des vom Blutpigment gebundenen Sauerstoffs wird dann bei höheren Sauerstoffspannungen stark beeinträchtigt durch die geringe Zunahme des gebundenen und die große Zunahme des gelösten Sauerstoffes; etwaige Fehler bei der Bestimmung des Absorptionskoeffizienten machen sich hierdurch außerordentlich stark geltend.

Bekanntlich wird das blaue Oxyhämocyandin nach Reduktion farblos. PANTIN und HOGBEN gebrauchten eine einfache kolorimetrische Methode, indem sie dabei Proportionalität zwischen die Intensität der Farbe und den Sättigungsgrad des Hämocyandins postulierten. REDFIELD, COOLIDGE und HURD verglichen bei der Bestimmung des Sättigungsgrades von Hämocyandin die Farbe der Blutprobe mit derjenigen, die man erhält bei Mischung von bekannten Mengen reduzierten und oxydierten Blutes.

Es kommt bei dieser Methode eine bedeutungsvolle Fehlerquelle in Betracht. Man brauchte bei Mischung von sagen wir 1 ccm reduzierten und 1 ccm oxydierten Blutes gar kein Gemisch mit 50% Oxyhämocyandin zu erhalten. Bei der Mischung entsteht nämlich eine Flüssigkeit, die eine Menge gelösten Sauerstoff enthält von einer Tension<sup>1</sup> von ungefähr 80 mm. Da nun bei 80 mm Sauerstoffdruck ein Blutpigment nur selten zu 50% mit Sauerstoff gesättigt ist, wird Sauerstoff abgegeben oder — was wahrscheinlicher ist — aufgenommen werden. Besonders bei Blut, das wenig Pigment enthält, können in dieser Hinsicht große Fehler gemacht werden. REDFIELD, COOLIDGE und HURD erhielten später bei Benutzung der kolorimetrischen Methode nach PANTIN und HOGBEN und der Pumpe übereinstimmende Resultate. „We have measured the percentage saturation of *Limulus* blood over the entire range of the dissociation curve simultaneously by the gasometric method and the colorimetric technique of PANTIN and HOGBEN and have found them to agree within the accuracy claimed for this methods. It should be possible to develop a very accurate colorimetric method for studying the equilibria between the hemocyanins and oxygen. Such a method would have the advantage of requiring no correction for dissolved oxygen.“ Die Methode von PANTIN und HOGBEN hat den Vorteil sehr einfach zu sein. Es wird in zehn Reagenzgläschen Blut des betreffenden Tieres, das mit verschiedenen Mengen Wasser verdünnt wurde, gegeben. Da *nur* Oxyhämocyandin gefärbt ist, darf man, wenn die zu untersuchende Blutprobe in der Färbung übereinstimmt mit der z. B. auf ein Fünftel verdünnten Blutflüssigkeit in einem der Standardröhrchen ohne weiteres sagen, daß sie 20% Oxyhämocyandin enthält. Da das reduzierte Blut noch durch andere Pigmente gefärbt sein kann und obendrein

<sup>1</sup> Die Kurven, die sie in ihrer vorläufigen Mitteilung von 1925 abbilden, stimmen tatsächlich nicht überein mit jenen in ihrer Veröffentlichung von 1926, worin über Ergebnisse mit der Pumpe berichtet wird.

opalisiert, so wird der Verdünnungsflüssigkeit etwas Hühnereiweiß und eventuell Farbstoff zugesetzt. Auch hier wird wieder eine absolute Sättigung des Hämocyans mit  $O_2$  bei Saturierung mit atmosphärischer Luft angenommen.

Bei meinen Versuchen benutzte ich zwei Küvetten von genau bekannter, aber verschiedener Dicke. Sie waren durch einen dickwandigen Gummischlauch an einen etwa 400 ccm fassenden zylindrischen Saturator angeschlossen. Das Verhältnis der Schichtdicken des Blutes in den Küvetten war ungefähr 4 : 6. Eine bestimmte Lichtmenge tritt durch diese Küvetten hindurch. Zuerst wird die Lichtabsorption bestimmt, wenn beide mit Blut, das mit reinem Sauerstoff saturiert wurde, gefüllt wird. Wir kennen dann die Absorptionskurve für Blut, das 100% Oxyhämocyantin enthält, bei *gegebener* Schichtdicke. Indem nun erst die eine, dann die andere, schließlich beide Küvetten mit gänzlich reduziertem Blut beschickt werden, kann auch die Absorption für Blut, das 60%, 40% und 0% Oxyhämocyantin enthält, bestimmt werden (Abb. 3).

Hernach wird das Blut in beiden Saturatoren mit einem Gasgemisch von bekannter Sauerstoffspannung saturiert und wieder die Lichtabsorption bestimmt. Es läßt sich der Sättigungsgrad in folgender Weise interpolieren.

Für verschiedene Wellenlängen werden Kurven angefertigt, auf deren Ordinate die Menge des vom Blute absorbierten Lichtes und auf deren Abszisse die prozentuale Sättigung des Hämocyans abgetragen wird. Die Werte für 0, 40, 60 und 100% sind bekannt, die betreffenden Punkte werden durch eine Kurve verbunden. Mit Hilfe dieser Kurven läßt sich für einen bestimmten Absorptionswert der zugehörige Sättigungsgrad ohne weiteres bestimmen. Aus den Zahlen für die verschiedenen Wellenlängen wird der Mittelwert bestimmt (Abb. 4).

Die Herstellung der Gasgemische fand in der von BARCROFT angegebenen Weise statt. Die Zusammensetzung wurde nach KROGH errechnet und hernach — wenn der Sauerstoffpartiardruck nicht sehr gering war — durch Gasanalysen mit einer Gaspipette nach JORDAN bestimmt. Der Stickstoff zur Herstellung der Gasgemische wurde über einer alkalischen Lösung von Natriumhydrosulfit aufbewahrt.

Bei der Berechnung des Sauerstoffgehalts bei niederem Partiardruck ist es nötig, die Temperatur, bei der die Herstellung des Gasgemisches stattfindet, zu kennen, um die Korrektur für die Wasserdampfspannung richtig ausführen zu können.

Die Küvetten stellte ich her aus Messingrähmchen, die sorgfältig auf die erwünschte Dicke abgefeilt und poliert wurden, und Glasplättchen, die mit Hilfe von „de Khotinsky Cement“ auf die Rähmchen gekittet wurden. Um einen gasdichten Verschuß des Gummischlauches auf die Küvetten zu gewährleisten, wurden die Ränder mit Schmirgel rund geschliffen und der Schlauch mit Kupferdraht umwunden.

Zur Bestimmung der Lichtabsorption benutzte ich das Spektrokolorimeter nach KEUFFEL u. ESSER. Abbildung 1 zeigt das Instrument in der von mir benutzten Aufstellung.

Das Licht zweier Lampen wird von den Magnesiumkarbonatblöckchen 6 und 7 diffus reflektiert. Durch zwei Öffnungen in dem Gehäuse treten Lichtbündel aus, von denen das obere durch die zu untersuchende Blutprobe, das untere nur durch die große mit Wasser von 20° gefüllte Küvette, worin die beiden Saturatorküvetten getaucht werden, geht. Nachdem die Lichtbündel durch das eigentliche Kolorimeter 14 gegangen sind, kommen sie in das Spektroskop. Mit Hilfe der Schraube 4 stellt man auf eine bestimmte Wellenlänge ein. Die obere Hälfte des

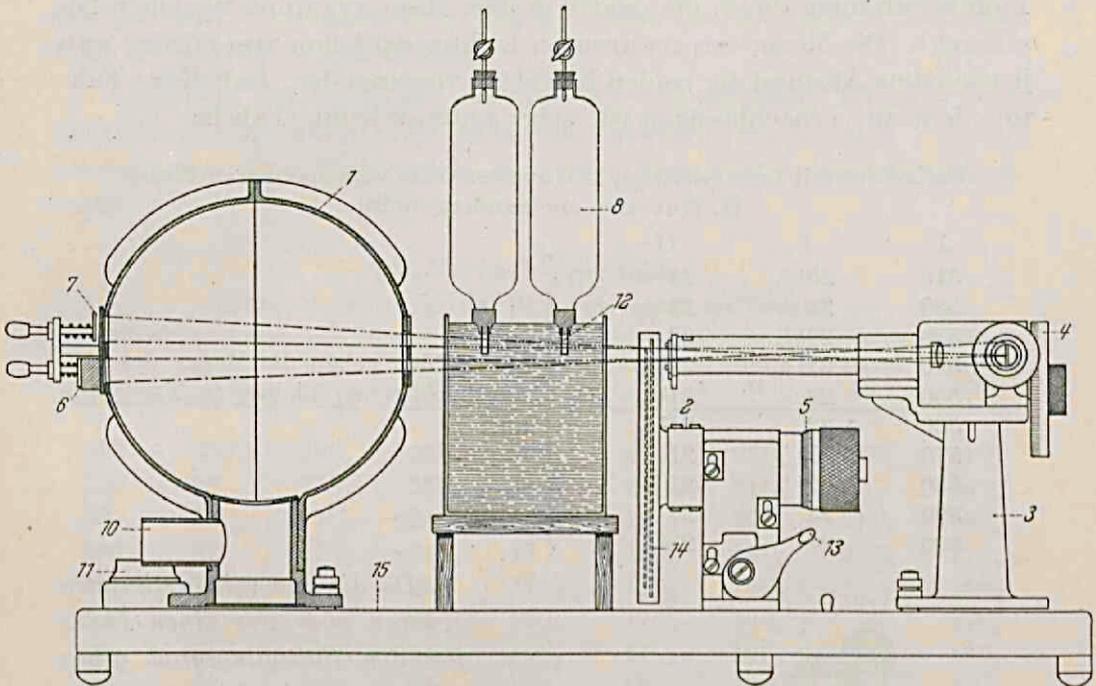


Abb. 1. Das Spektrokolorimeter nach KEUFFEL und ESSER. Die Küvetten 12 der Saturatoren 8 sind in einen Glastrog getaucht, der mit Wasser von 12° gefüllt ist.

Gesichtsfeldes erhält nur Licht das vom unteren, die untere nur solches das vom oberen Magnesiumkarbonatblock reflektiert wurde.

Von der Lichtmenge, die zum Vergleich dient, kann ein Teil im Kolorimeter 2,14 durch ein System von zwei mit Löchern versehenen Drehscheiben abgeblendet werden, mit Hilfe der Stellschraube 5. Diese Schraube trägt eine Skala, auf der die Menge des hindurchgelassenen Lichtes ohne weiteres abgelesen werden kann.

Eine genaue Beschreibung des Instrumentes findet sich in einer Veröffentlichung von C. KEUFFEL (man sehe das Literaturverzeichnis).

Das Blut wurde in der von BEGEMANN angegebenen Weise erhalten. Am oberen Rande der ersten Schalenwindung wurde ein kleines Loch gestochen, die Mantelvene durch Einstich geöffnet und das Blut ausgepreßt, indem das Tier weiter in das Gehäuse getrieben wurde. Die Schalenöffnung wurde sorgfältig mit einem Wattebausch verschlossen,

um die Verunreinigung des Blutes mit Schleim zu verhindern. Nachdem etwas Carbo animale zugegeben war, wurde geschüttelt und filtriert, um die Leukozyten durch Adsorption zu entfernen. Dies ist nötig, weil die Leukozyten ziemlich viel Sauerstoff verbrauchen sollen: In nicht vorbehandeltem Blut tritt Spontanreduktion auf.

*Es muß mit Nachdruck betont werden, daß die bei dieser Methode erhaltenen Lichtabsorptionswerte zur Feststellung eines absoluten Absorptionsspektrums nicht zu gebrauchen sind.* Die Menge des hindurchgelassenen Lichtes wird nicht nur von der Lichtabsorption, sondern auch von der Lichtzerstreuung durch die relativ großen Hämocyteinpartikelchen bestimmt<sup>1</sup>. Die Menge des zerstreuten Lichtes wird nun verschieden sein je nach dem Abstand der beiden Küvetten voneinander. Daß dieser Faktor nicht zu vernachlässigen ist, zeigt untenstehende Tabelle:

*Helix*-Blut mit Luft gesättigt, I. Küvetten 5 cm voneinander entfernt, II. Küvetten aneinandergestellt.

$\lambda$	I	II
510	26 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	25
520	25	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
530	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	23
540	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
550	22	21 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
560	22	21 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>
570	21 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21
580	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21
590	23	23
600	24	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>

Die Zahlen geben die Menge des hindurchgelassenen Lichtes in Prozenten an.

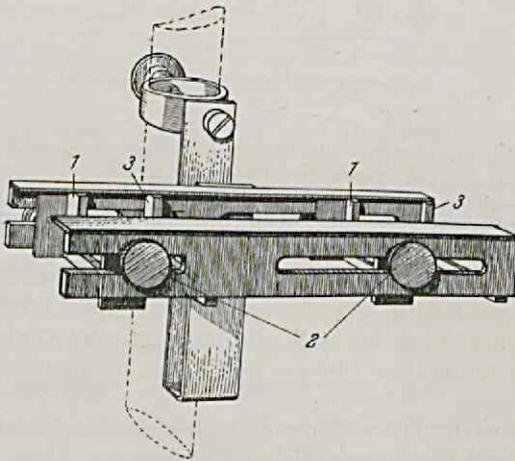


Abb. 2. Gestell, worin die Küvetten fixiert wurden. Die beweglichen messingnen Röhrrchen 1 sind mit Hilfe der Schrauben 2 so zu fixieren, daß die Küvetten zwischen 1 und dem festen Rähmchen 3 geklemmt werden.

Da die von mir bestimmten Kurven aber nur einen Index für den Sättigungsgrad geben sollen, wird die Lichtzerstreuung als Fehlerquelle ausgeschaltet, indem man die Küvetten in einem Gestell fixiert, so daß sie immer an derselben Stelle des Lichtbündels sich befinden (Abb. 2).

Es ist nicht unmöglich, daß die Größe der Hämocyteinteilchen sich bei der Oxydation ändert und damit auch die Lichtzerstreuung. In diesem Falle wäre es nicht sicher, ob

<sup>1</sup> Genaue Bestimmungen des Spektrums verschiedener Hämocyteinarten führte REDFIELD aus.

die Lichtmengen, die geradlinig passieren, dieselben sind, wenn beide Küvetten mit Blut, das zu 40% mit O<sub>2</sub> gesättigt ist, beschickt sind, oder die kleinere mit oxydiertem, die größere mit reduziertem Blut. Indessen müßten dann auch verschiedene Kolorimeterzahlen erhalten werden, wenn die Küvetten miteinander verwechselt werden; dies ist aber nicht der Fall<sup>1</sup>.

Die PANTIN-HOGBENSche Methode ist viel einfacher und gibt sogar Dissoziationskurven, wovon die Punkte eine kleinere Streuung aufweisen. Man muß aber annehmen dürfen, daß das Hämozyanin bei 160 mm Sauerstoffpartiardruck praktisch für 100% oxydiert ist, und gerade dies sollte noch einmal untersucht werden.

Außerdem läßt sich mit der von mir verwendeten Technik auch die Dissoziationskurve von Blut, das gelöstes Hämoglobin enthält, bestimmen. Das Blut wurde bei einer Temperatur von 20° untersucht.

§ 2. Versuchsergebnisse.

Tabelle 1. Etwa 25 ccm Blut von mehreren Tieren.

	0 % Ox.Hzy.	40 % Ox.Hzy.	60 % Ox.Hzy.	100 % Ox.Hzy.	Versuch I	Versuch II	Versuch III	Versuch IV
510	35 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	25 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	20 <sup>1</sup> / <sub>6</sub> *	21	22 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	21 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	21 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>
520	36	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	20	21 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	22	19 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>
530	36 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	19	20 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	21 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>
540	37	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	17	18 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	21 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>
550	38 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>5</sub>	24	17	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	21 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	16 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>
560	40 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	24	16 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	19 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	—	16 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>
570	41 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	16 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	19 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	22 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	16 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>
580	42	28 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25	17 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	18	19 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	22 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	17 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
590	42	29 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	25	17 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	20 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	24 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	17 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>
600	44	30 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	26 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	18	19 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25	18 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>

\* λ 505.

	O <sub>2</sub> -Gehalt in %	O <sub>2</sub> -Druck im Saturatur in mm
I	4,9	26,7
II	1,55	11,7
III		4,5 (errechnet)
IV		157 (atm. Luft)

<sup>1</sup> Es wird jetzt vielfach angenommen, daß es vier Verbindungen von Hämozyanin (und Hämoglobin) mit O<sub>2</sub> gibt, die sogenannten „Zwischenstufen“ könnten abweichende Spektren haben. Nach REDFIELD soll dies aber nicht der Fall sein.

Tabelle 2. 25 ccm Blut.  
Kolorimeterzahlen.

	0 % Ox.Hzy.	40 % Ox.Hzy.	60 % Ox.Hzy.	100 % Ox.Hzy.	Versuch I	Versuch II	Versuch III	Versuch IV
510	31	25 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	24 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	19	20 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	30	28	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
520	32	25 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	23 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	19 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	30 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>
530	32 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	24 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	23	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	18 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	32 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	28 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	16 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
540	34	24 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	22 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	15 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	18	32 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	28 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	16
550	34 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25	21 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	14 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	18	33 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	29 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	15 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
560	35	24 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	14 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	18	35 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	30	15 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
570	35 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	15 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	18 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	36 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	30 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	15 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
580	37 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	23 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	16	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	37 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	31 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	16
590	38 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	26 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	16 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	19 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	39	32 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	16 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
600	39	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	24 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	17	20 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	40	33 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	18

	O <sub>2</sub> -Gehalt in %	O <sub>2</sub> -Druck im Saturator in mm
I	2,35	17,0
II	0,7	5,2
III	1,0	7,4
IV		155,7 (atm. Luft)

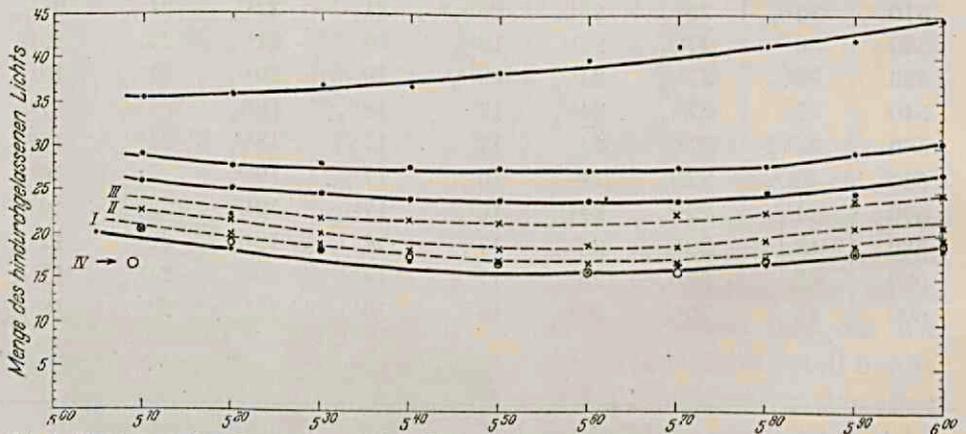


Abb. 3. Lichtabsorptionskurven von *Helix*-Blut nach Tab. 1. Die ausgezogenen Kurven geben die Werte für 0, 40, 60 und 100% Oxy.-Hzy. Die gestrichelte diejenige für Blut, wovon die Sättigung ermittelt werden mußte. Für Analyse der Kurven siehe Abb. 4.

Die verarbeiteten Ergebnisse der Tabelle 1 finden sich auf S. 11.

Aus dem Verlauf der Dissoziationskurven (Abb. 5) ist zu entnehmen, daß die Kurven für *Helix*-Blut denjenigen für verdünntes und dialysiertes Serum, wie sie HOGBEN u. PINHEY bestimmten, sehr ähnlich sind. Die Streuung ist bei meinen Versuchsergebnissen größer; für Hämoglobin ist also die einfache Methodik von PANTIN u. HOGBEN sehr geeignet; wie aber schon erwähnt wurde, läßt sich die von mir verwendete Technik

auch für andere Blutarten gebrauchen. Der Einfluß der Kohlensäure auf die Form der Dissoziationskurve ist sehr gering.

Die stark abweichenden Resultate BEGEMANN'S lassen sich kaum aus

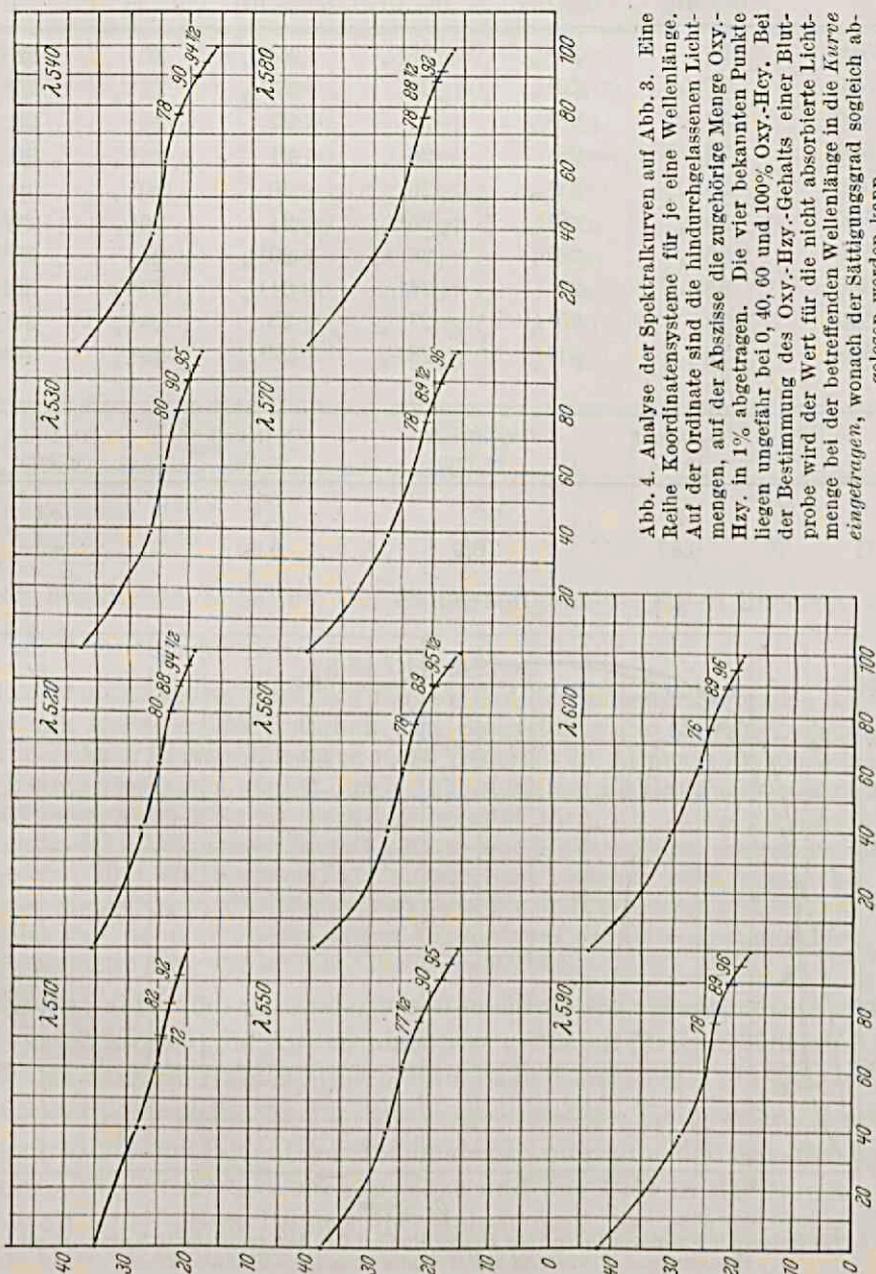


Abb. 4. Analyse der Spektralkurven auf Abb. 3. Eine Reihe Koordinatensysteme für je eine Wellenlänge. Auf der Ordinate sind die hindurchgelassenen Lichtmengen, auf der Abszisse die zugehörige Menge Oxy-H<sub>2</sub> in 1% abgetragen. Die vier bekannten Punkte liegen ungefähr bei 0, 40, 60 und 100% Oxy-H<sub>2</sub>. Bei der Bestimmung des Oxy-H<sub>2</sub>-Gehalts einer Blutprobe wird der Wert für die nicht absorbierte Lichtmenge bei der betreffenden Wellenlänge in die Kurve eingetragen, wonach der Sättigungsgrad sogleich abgelesen werden kann.

der Benutzung einer fehlerhaften Technik herleiten, da der mit derselben Methodik bestimmte Wert der spezifischen Sauerstoffkapazität offenbar richtig ist; da REDFIELD, COOLIDGE und SHOTTS und vor kurzem ROMIJN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Die Resultate von Herrn ROMIJN wurden nicht veröffentlicht.

Tabelle 3. Einfluß der Kohlensäure.  
Kolorimeterzahlen.

	0 % Oxy.Hzy.	40 % Oxy.Hzy.	60 % Oxy.Hzy.	100 % Oxy.Hzy.	Versuch I	Versuch II
510	33	29 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	23 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	26	28 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>
520	33 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	29 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	28	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	26 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
530	34	28 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	27	22	26	29
540	34	28	26	21	26 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	30
550	34 <sup>3</sup> / <sub>8</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	26	20	26 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	
560	35 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21	26 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	29 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
570	36 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	28 <sup>5</sup> / <sub>8</sub>	26	20 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27	30 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>
580	36 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	29	26 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	30 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
590	38	30 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	23	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	32
600	38 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	31 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	29 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	33 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>

	O <sub>2</sub> -Gehalt in %	O <sub>2</sub> -Druck in mm	CO <sub>2</sub> -Gehalt in %	CO <sub>2</sub> -Druck in mm
I	?		5,8	43
II	0,87	6,9	6,35	47

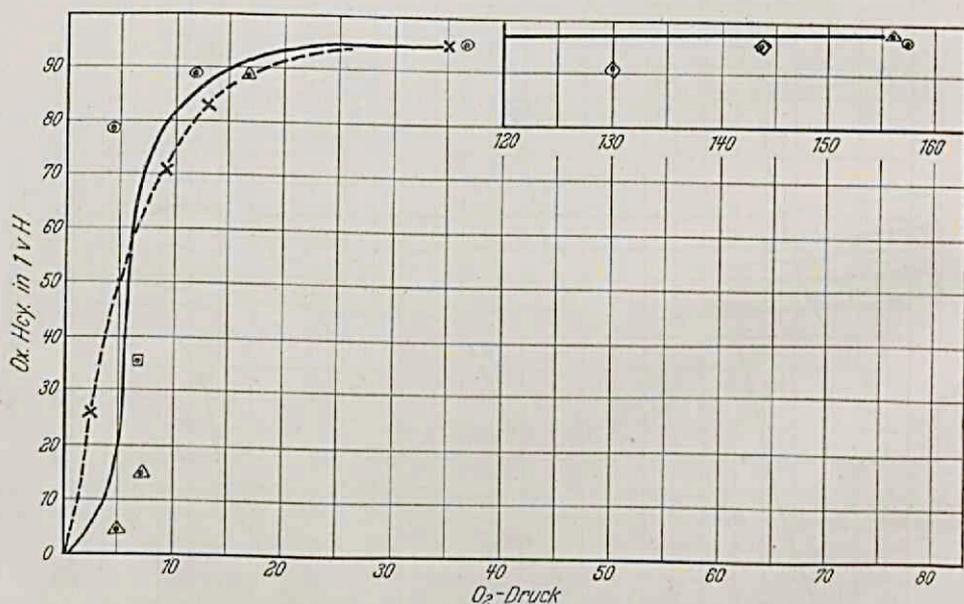


Abb. 5. Sauerstoff-Dissoziationskurve vom *Helix*-Blut bei 20°. Die gestrichelte Kurve ist eine nach HOGGEN und PINHEY von mit Pufferlösung verdünntem Blut.

im Utrechter Institut für vergleichende Physiologie unter Benutzung einer anderen Kupferbestimmungsmethode, diesen Befund bestätigen konnten. Da das Hämozyanin bei 20 mm Sauerstoffpartiardruck zu mehr als 90% gesättigt ist, ist es verständlich, daß die von ihm oberhalb 20 mm

Tabelle 4. Einfluß der Kohlensäure.  
Kolorimeterzahlen.

	0 % Oxy.Hzy.	40 % Oxy.Hzy.	60 % Oxy.Hzy.	100 % Oxy.Hzy.	Versuch I	Versuch II
510	34	28	26 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	24
520	35	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	21 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	24
530	36 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	27	21	21 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	23 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>
540	37 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	26	20 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	21	22 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>
550	38 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	20 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	21 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	22
560	39 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	29 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	27	20	21 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	22
570	39 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	29	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	20	22	22
580	40 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	29 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	27 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	20 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	22	22 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>
590	42 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	31 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	22 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	23 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
600	43 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	32	30	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	23 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	25

	O <sub>2</sub> -Druck in mm	CO <sub>2</sub> -Gehalt in %	CO <sub>2</sub> -Druck in mm
I	143,7	6,4	48
II	130	13	99

Druck bestimmte Zunahme des Sauerstoffgehaltes einen linearen Verlauf zeigt.

### § 3. Diskussion.

LIEBSCH und später YSSELING fanden, daß der Sauerstoffverbrauch aus der Lunge von *Helix pomatia* unterhalb 11% Sauerstoff stark abnimmt, obendrein treten bei diesen Sauerstoffdrucken nach YSSELING die Atmungsbewegungen auf. Dies könnte verursacht werden durch Anhäufung der Kohlensäure, wodurch die Schlagfrequenz des Herzens stark herabgesetzt wird; aber auch die Dicke der Wandung der „Lungenkapillaren“ könnte eine Rolle spielen, indem zwischen Lunge und Blut ein gewisser Druckunterschied bestehen muß, wenn eine genügende Menge O<sub>2</sub> in das Blutgefäßsystem hineindiffundieren soll. Wäre dies nicht der Fall, dann müßte bei diesem Partiardruck das Hämocyamin noch völlig mit O<sub>2</sub> gesättigt sein, was offenbar nicht der Fall ist.

Die Tatsache, daß p<sub>H</sub>-Änderungen im Blute, wie HOGGEN u. PINHEY und wie ich fanden, die Anwesenheit von größeren Mengen Kohlensäure die Menge des vom Hämocyamin gebundenen Sauerstoffes nur sehr wenig herabsetzen, ist vielleicht für die eingedeckelten Tiere während ihres Winterschlafes von Bedeutung, indem das Diaphragma den Gasaustausch mit der Umgebung stark herabgesetzt und das Blut in der Lunge den Sauerstoff wohl einem Raume entnehmen muß, der relativ wenig von diesem Gase, dafür viel Kohlensäure enthält.

Der geringe Einfluß der Kohlensäure auf das Gleichgewicht Hämocyamin + O<sub>2</sub>  $\rightleftharpoons$  Oxyhämocyamin erschwert natürlich auch die Abgabe des O<sub>2</sub> an die Gewebe. Da ist es nun von Interesse, daß die Flexur in der Dissoziationskurve sehr tief ist: Die drei Punkte, die relativen Sättigungen unterhalb 40% entsprechen, liegen oberhalb des Wertes 5 mm O<sub>2</sub>-Druck

der Abszisse. Auch bei Berücksichtigung der ziemlich großen Streuung weist dies auf einen jähen Abfall der Kurve hin. Natürlich wird hierdurch die Abgabe des  $O_2$  an das Gewebe gefördert.

Daß HOGBEN u. PINHEY fast keinen Knick in der Kurve fanden, rührt wohl von der Tatsache her, daß sie mit mit Phosphatlösung verdünntem oder dialysiertem Serum arbeiteten.

Der geringe Hämozyaniningehalt vom *Helix*-Blut und die Gleichheit der Dissoziationskurve stützen die Meinung, daß *Helix* sein Blutpigment vielleicht nur benutzt, wenn der  $O_2$ -Druck in der Lunge stark herabgesetzt ist: Das frei umherkriechende Tier käme dann mit dem physikalisch im Blute gelösten Sauerstoff aus.

## II. Rana.

Während von vielen Tieren die Sauerstoffbindung durch das Blut untersucht wurde, ist dies beim Frosch nicht der Fall. Nur die Dissoziationskurve von Frosch-*Hämoglobin* in stark verdünnter Lösung wurde von MAČELA u. SELISKAR untersucht. Indessen ist die Kenntnis der Dissoziationskurve vom Froschblut von besonderem Interesse wegen der sehr komplizierten Sauerstoffversorgung durch ein eigenartiges Blutkreislaufsystem, das den Sauerstoff nicht nur von der Lunge, sondern auch durch die Haut hindurch erhält.

Ich habe außer der Sauerstoffbindung auch den Eisengehalt des Blutes bestimmt. Die Sauerstoffbindung wurde bei  $20^{\circ}$  untersucht, also bei einer für das Tier im Sommer normalen Temperatur.

### § 1. Methodik.

Erst nach vielem Probieren gelang es mir, die Methoden der Sauerstoffbestimmung so zu modifizieren, daß einigermaßen befriedigende Resultate erhalten wurden.

Die Senkungsgeschwindigkeit der Blutkörperchen ist groß, so daß an ein Arbeiten mit dem Spektrokolorimeter nicht zu denken war. Natürlich muß auch das Abmessen einer bestimmten Blutmenge schnell vor sich gehen, da sonst die Menge der Blutkörperchen in den verschiedenen Blutproben stark schwankt.

Beim Arbeiten mit dem BARCROFTSchen Differentialapparat stellte es sich heraus, daß beim Schütteln mit BARCROFTS Ammoniak ein galleriger Niederschlag entstand. Es gelang nicht, übereinstimmende Resultate zu erhalten. KROGH berichtet über ähnliche Erfahrungen mit Fischblut. MOČELA u. SELISKAR hatten dieselben Schwierigkeiten beim Arbeiten mit Froschblut. Besonders wenn Blutlaugensalz zum Austreiben des Sauerstoffs hinzugefügt wurde, trat der oben erwähnte Niederschlag auf. Aus kolloidchemischen Gründen schien es nicht unmöglich, daß dem stark negativen  $Fe(CN)_6$ -Ion diese ungünstige Neben-

wirkung zukommt. Zur Kompensation fügte ich zu der Blutlaugensalzlösung  $\text{AlCl}_3$  in verschiedenen Konzentrationen hinzu, aber ohne Resultat.

Dagegen konnte Hämolyse ohne lästige Nebenerscheinungen erzielt werden, wenn eine Saponinlösung, der etwas Oktylalkohol zugegeben wurde, um Schaumbildung beim Schütteln vorzubeugen, benutzt wurde. Aber Ammoniak durfte diese Lösung nicht enthalten, da sonst wieder eine Gallerte entstand. Obwohl nun BURN nachgewiesen hat, daß die Kohlensäure im Apparat zur Fehlerquelle werden kann, wenn die Flüssigkeit in der Birne nicht alkalisch reagiert, mußte ich doch vom Gebrauch von Alkali (auch Kalilauge rief dieselben Erscheinungen hervor) absehen. Indessen stimmen die Zahlen, die ich erhielt, ziemlich gut mit denjenigen der weiter unten erwähnten Pumpentechnik überein.

Bei den endgültigen Versuchen wurde jede Birne eines nach VERZÁR modifizierten BARCROFT-Apparates mit 2 ccm einer Lösung, die 0,3% Saponin und 0,3% Oktylalkohol enthielt, beschickt (vorher schütteln). In den Glaseinsatz kommt  $\frac{1}{2}$  ccm einer kalt gesättigten Lösung von  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ . In diese linke Birne wurde sofort eine Blutprobe aus der Pipette eines Saturators gegeben, diese dann bei  $20^\circ$  durch Schütteln hämolysiert und dadurch zugleich mit Luft gesättigt. Schließlich kam auch eine Probe, die im Saturator mit Sauerstoff von bekanntem Partialdruck gesättigt worden war, in die rechte Birne. Der ganze Apparat wurde nun ins Wasserbad getaucht, und nach Temperatenausgleich wurden die Hähne geschlossen. Nun wird kräftig geschüttelt. Das Blut hämolysiert und das Hämoglobin nimmt, wenn das Gasgemisch im Saturator weniger als 20%  $\text{O}_2$  enthielt, Sauerstoff auf! Mit Hilfe der Stellschraube wird die Sperrflüssigkeit im Manometer wieder in ihre ursprüngliche Lage gebracht. Das Volumen des aufgenommenen Sauerstoffs wird abgelesen und hernach die  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Lösung in die Birne eingelassen. Nach wiederholtem Schütteln wird schließlich die Menge ausgetriebenen Sauerstoffs, und damit die Sauerstoffkapazität, bestimmt.

Die Bestimmung der Sättigung erfolgte also durch Ermittlung der Menge des in der Birne aufgenommenen Sauerstoffs.

Es ist nun noch folgendes zu bemerken: Erstens wurde mit Hilfe eines Gasofens die Zimmertemperatur auf ungefähr  $20^\circ$  gebracht, damit die Menge des physikalisch gelösten Gases immer ungefähr die gleiche blieb (man darf natürlich nicht die Hände in die Nähe der Birnen bringen).

Zweitens muß man dafür sorgen, daß die zur genauen Ablesung der Gasvolumina benutzte Lichtquelle die Birnen nicht beleuchtet: Der Farbstoff absorbiert natürlich Licht, die Birne wird erwärmt und es treten sehr beträchtliche Fehler auf!

Drittens ist es erwünscht, den ganzen Apparat ins Wasserbad zu tauchen, da schon durch Temperaturerhöhungen von etwa  $1^\circ$  die Sperrflüssigkeit in beiden Manometerröhren etwas steigt.

<sup>1</sup> Ähnliches berichten DOLK und VAN VEEN.

In das kalibrierte Rohr wurde BRODIESCHE Flüssigkeit gegeben, die Sperrflüssigkeit im Manometer war entweder Capronsäure oder mit etwas Sudan III gefärbtes Petroleum. (Das Stückchen Vakuumschlauch am Ende des kalibrierten Rohres schließt am besten beim Gebrauch der obengenannten Flüssigkeit.)

Die Volumina des aufgenommenen oder ausgetriebenen Sauerstoffs müssen nicht nur auf 0° und 760 mm Druck reduziert werden, wie dies beim ursprünglichen BARCROFT-Apparat der Fall war, sondern auch eine Korrektur für die Wasserdampfspannung ist nötig (WERTHEIMER).

Weiter ist natürlich zu berücksichtigen, daß das Blut bei anderen O<sub>2</sub>- und N<sub>2</sub>-Drucken saturiert wurde als die in der Birne herrschenden. Im allgemeinen sind die N<sub>2</sub>-Drucke höher, die O<sub>2</sub>-Drucke niedriger. Im BARCROFT-Apparat wird also N<sub>2</sub> abgegeben, O<sub>2</sub> aufgenommen werden, und da die Löslichkeit des Stickstoffs etwa zweimal größer ist als die von Sauerstoff, sind Korrekturen erwünscht. Für Froschblut wäre eine genaue Kenntnis der Löslichkeit dieser Gase sehr erwünscht.

Leider ist eine Bestimmung dieser Löslichkeit in der Praxis nicht leicht auszuführen. Sogar für Säugerblut soll sie eigentlich noch nicht einwandfrei festgestellt worden sein. Einige Bestimmungen, die ich auch mit Hilfe des BARCROFT-Apparates ausführte, ergaben nur Zahlen, die unter sich so stark abwichen, daß sie praktisch wertlos waren. Ich habe schließlich die Absorptionskoeffizienten von Menschenblut benutzt, wiewohl zu erwarten ist, daß die Löslichkeit der Gase in Froschblut mit seinem geringeren Salzgehalt etwas größer sein wird.

Theoretisch ist es natürlich auch möglich, aus dem Eisengehalt des Blutes die O<sub>2</sub>-Kapazität des Hämoglobins, sowie aus der totalen, vom Blute aufgenommenen und mit einem VAN SLIJKE-Apparat extrahierten Sauerstoffmenge die Löslichkeit dieses Gases zu bestimmen. Indessen war auch dies praktisch unmöglich, da die Genauigkeit der Gas- und Eisenbestimmungen nicht genügend groß war.

Aus dem Vorhergesagten ist zu entnehmen, daß eine Bestätigung der mit dem BARCROFT-Apparat gewonnenen Zahlen durch Bestimmungen des Sauerstoffgehalts durch eine andere Methode sehr erwünscht war. Eine zweite Versuchsserie wurde daher angestellt, wobei das Blut mit Hilfe eines VAN SLIJKE-Apparates entgast und der absolute Sauerstoffgehalt mit der JORDANSCHEN Gaspipette bestimmt wurde. Im wesentlichen wurde die von BEGEMANN verwendete Methode befolgt, wobei aber einige Änderungen nötig waren (Abb. 6).

Der Sauerstoff konnte nur durch Evakuieren ausgetrieben werden, da, wie schon erwähnt, Blutlaugensalz, auch wenn vorher mit Saponin hämolysiert wurde, die Bildung einer Gallerte verursachte, wodurch u. a. die Bohrung des Hahnes *F* verstopft wurde, so daß das Blut-Wassergemisch nicht in *G* „abgefangen“ werden konnte. Durch Vergleichung der Menge des Sauerstoffs, erhalten durch Auspumpen von

mit atmosphärischer Luft gesättigten Blutproben, mit derjenigen, die man erhält, wenn man auf Grund von Eisenbestimmungen die  $O_2$ -Kapazität berechnet, zeigte es sich aber, daß Reabsorption von  $O_2$  beim Austreiben des Gases durch Hahn *C* praktisch nicht nachzuweisen ist.

Bei den endgültigen Versuchen wurde eine Pumpe benutzt, wo nach Angabe von REDFIELD, COOLIDGE und HURD unterhalb der „Falle“ *G* ein Glasrohr von etwa 80 cm angeschmolzen worden war. Wenn man mit Hilfe des Niveauglases *J* das Quecksilber bis unter *G* bringt, steht über der Stelle *G*, wo der Vakuumschlauch angeschlossen ist, noch eine Quecksilbersäule, die einen Druck von etwa 1 Atm. ausübt. Durch diese kleine Vorsichtsmaßregel wird das Eindringen der Außenluft in den Apparat beim Evakuieren verhindert.

Bei jedem Versuch wird in den Behälter *B* etwa 5 ccm Aq. dest. gegeben; in den unteren kapillaren Teil wird mit Hilfe einer Glaspipette ein Tropfen Oktylalkohol eingebracht. Die Flüssigkeit wird in *D* eingesogen, entgast, die Gasblase durch *B* ausgetrieben und hernach ein zweites Mal entgast. Nachdem das Wasser-Oktylalkoholgemisch in *B* getrieben worden ist, kommt die Blutprobe, die mit Hilfe der Saturatorpipette abgemessen wurde, unter das entgaste Wasser in *B*. Am besten wird die Niveaurbirne so gestellt, daß bei etwas geöffnetem Hahne sogleich die größte Menge des Blutes in *D* eintritt. Beinahe das ganze Quantum Wasser wird nachgesogen. Die Entgasung findet in der gewöhnlichen Weise statt, das Blut-Wassergemisch wird so gut wie möglich in *G* abgefangen. Durch die linke Bohrung von *F* wird Quecksilber in *D* zugelassen und schließlich das Gas durch das Kapillarrohr *A* ausgetrieben und in den Kelch einer Gaspipette aufgefangen. Der Gaskelch *L* ist mit 2%iger Kalilauge gefüllt, wodurch einmal die Kohlensäure sogleich absorbiert wird, andererseits die Gasblase intakt bleibt. Wenn *L* mit reinem Wasser gefüllt wird, zerfällt die Gasblase oft in viele kleine, da das Blut-Wassergemisch, ungeachtet der Anwesenheit von Oktylalkohol, zur Schaumbildung neigt.

Daß während dieser Manipulationen praktisch kein Sauerstoff aufgenommen bzw. abgegeben wird, zeigt folgender Versuch:

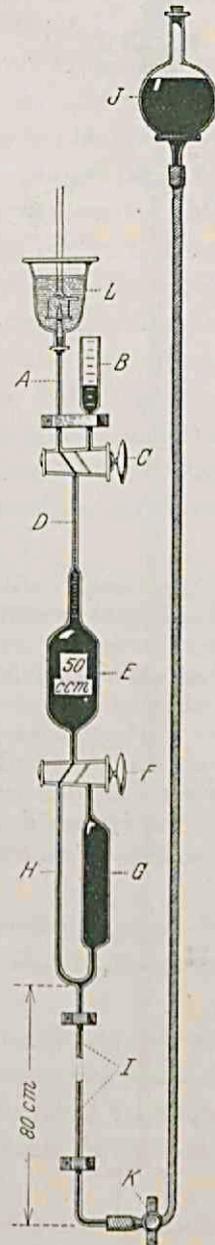


Abb. 6. Blutgaspumpe nach VAN SLIJKE, modifiziert.

Froschblut wurde in einem Saturator einer Atmosphäre von reinem  $N_2$  exponiert. Eine Blutprobe wurde entgast und das Gas mit der JORDAN-Pipette analysiert:

Länge der Gasblase in der Pipette  
 nach  $CO_2$ -Absorption 13,6  
 nach  $O_2$ -Absorption 13,4.

Praktisch ist also kein  $O_2$  aufgenommen worden, obwohl in diesem Falle die Bedingungen dafür möglichst günstig waren (man sehe auch die Kontroll-experimente auf S. 20).

Zur Analyse des im Saturator befindlichen Gas-gemisches sowie der mit der Pumpe extrahierten Blutgase dient die von JORDAN in Anlehnung an den KROGH'schen Mikrotonometer konstruierte Gas-pipette, die von mir etwas modifiziert und auf Ge-nauigkeit betreffs der Sauerstoffbestimmung geprüft wurde (Abb. 7).

Sie besteht aus einem Kapillarrohr  $D$ , das einer-seits mit dem Kelch  $C$ , andererseits mit einem mit Hahn versehenen Glasrohr  $K$  verbunden ist. An  $R$  wird ein Seitenrohr  $A$  mit Stellschraube  $B$  ange-schmolzen.  $B$  wird mit Lanolin gefettet, und in  $A$  wird etwas Quecksilber gegeben, damit ein luftdich-ter Verschuß gewährleistet ist. Ein Stück Vakuumschlauch mit Stellschraube  $S$  verschließt  $K$ . Nach jeder Bestimmung wurden  $K$  und  $S$  geöffnet und die Pipette mit angesäuertem Wasser gespült. Wenn nun  $K$  geöffnet wird, kann mit Hilfe von  $B$  ohne weiteres eine Gasprobe aufgenommen werden. Die Pipette wird gefüllt mit Schwefelsäure, 1%ig. BEGE-MANN hat Quecksilber als Sperrflüssigkeit benutzt. Bei vertikalem Stand der Pipette tritt dann aber oft Luft durch die gefettete Schraube  $B$  in  $K$  ein, oben-drein erhielt ich genauere Resultate, wenn ange-säuertes Wasser benutzt wurde, bei Analyse kleiner Gasmengen.

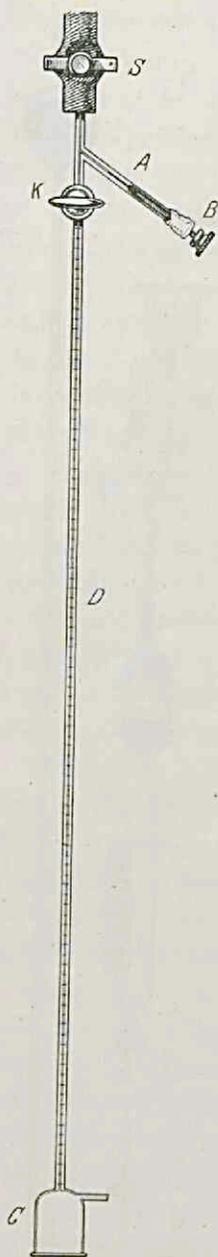


Abb. 7. Gaspipette nach JORDAN, modifiziert.

Der Gang einer Analyse war wie folgt: Zuerst wurde der Kelch  $C$  so in ein Gefäß mit angesäuertem Wasser getaucht, daß er keine Luftblase enthielt; dann wurde das zu untersuchende Gas in  $C$  aufgefangen und eine Probe aufgesaugt (die Blutgase wurden ganz aufgenommen). Die Pipette wird in einen mit Wasser gefüllten Trog gelegt, und nach Temperatenausgleich wird mittels Spiegelablesung das Volum bestimmt. Nun wird  $C$  mit

einem Gummistöpsel verschlossen und mit zweiprozentiger Kalilauge beschickt. Die Gasblase wird hinuntergeschraubt, die Pipette in schräge Lage gebracht, *etwas Lauge in D aufgenommen* und die Blase — die nun keine Kohlensäure mehr enthält — wieder in *D* aufgesaugt.

Nach erneuter Ablesung des Volumens wird *C* mit Gummistöpsel verschlossen und durch das Seitenrohr hindurch mit „STOKESScher Flüssigkeit“<sup>1</sup> gefüllt und das Gas wieder hinuntergetrieben. Durch Schütteln wird die Sauerstoffabsorption beschleunigt. Man muß natürlich verhüten, daß Luft durch das Seitenröhrchen in *C* eintritt. Man darf die Blase nicht länger, als für die Absorption nötig ist, in *C* lassen, da, *nachdem aller Sauerstoff absorbiert ist, das Volum wieder etwas zunimmt*. Durch wiederholtes Aufsaugen und Ablesen in *D* stellt man die Abnahme und die schließlich erfolgte Konstanz des Volumens fest. Enthält das Gas nur etwa 3—4% Sauerstoff, dann muß die erste Ablesung schon nach 15 bis 20 Sek. stattfinden. Bei Analyse einer *Luftprobe* darf man  $\frac{1}{2}$  Min. schütteln. Hernach darf sie nach jeder Ablesung im allgemeinen nicht länger als etwa 10 Sek. in der Absorptionsflüssigkeit verweilen.

Die „STOKESSche“ Flüssigkeit darf nicht mit der angesäuerten Sperflüssigkeit in Berührung kommen, da sonst ein Niederschlag entsteht. Zuerst versuchte ich daher ob nicht die Sauerstoffabsorption hinreichend schnell vor sich gehe, wenn man, wie bei einer Analyse mit dem KROGHSchen Mikrotonometer, die Gasprobe bei vertikaler Stellung des Apparates hinunterschraubt, bis nur noch eine kleine Säule im unteren Ende von *D* sich befindet, und dann die Blase einige Male teilweise auf und nieder schraubt. Die Absorption von einer Luftblase war dann aber nach einer Viertelstunde noch nicht ganz erfolgt; das ist natürlich viel zu lange. Wenn man aber, auch wenn das Gasgemisch keine Kohlensäure enthält, etwas Lauge in *D* aufnimmt, tritt oben erwähnter störender Niederschlag nicht auf.

Nach jeder Analyse wird die Pipette in vertikale Stellung gebracht, Hahn *K* und Stellschraube *S* werden geöffnet und das Kapillarrohr mit angesäuertem Wasser gespült.

Es bleibt nun noch zu untersuchen übrig, ob eine Gasblase, die *viel* oder *wenig* Sauerstoff enthält, in der Kapillare und besonders während sie im angesäuerten Wasser in Kelch *C* sich befindet, in nicht zu langer Zeit eine merkliche Volumänderung zeigt, dadurch, daß Gase hinein- oder hinausdiffundieren.

In *D* findet praktisch keine Volumänderung statt, selbst dann nicht, wenn eine Sauerstoffblase beiderseits von STOKESScher Flüssigkeit abgesperrt wird, und in *C* sind Fehler von einiger Bedeutung auch nicht

<sup>1</sup> Die Zusammensetzung der von mir benutzten Absorptionsflüssigkeit weicht ab von der von STOKES angegebenen. Sie enthält: 1 Teil  $\text{FeSO}_4$ , 40%ig, 5 Teile K-Na-Tartrat, 25%ig. Vor dem Gebrauch 1 Teil KOH, 40%ig, zugeben (Vorsicht!).

zu befürchten, wenn man nur die aufgefangene Gasprobe sogleich aufsaugt.

Als Beleg diene folgende Tabelle:

Eine Sauerstoffblase wird in *D* aufgenommen.

	Länge der Gasblase nach erfolgter Temperaturkorrektur.
Im Anfang . . . . .	95,8 mm
Nach 5 Minuten . . . . .	95,85 „
„ 10 „ . . . . .	95,85 „
„ 15 „ . . . . .	95,85 „
„ 20 „ . . . . .	95,8 „

Die Blase wird, nachdem der Kelch der Pipette in einen Behälter mit angesäuertem Wasser getaucht worden ist, ganz in *C* gepreßt.

Länge der Gasblase nach 5 Minuten: 95,1 mm.

Man sieht, daß während dieser Zeit nur relativ wenig Sauerstoff ins Wasser diffundiert ist. Bei Gasgemischen, die weniger Sauerstoff enthalten, wird der Fehler entsprechend kleiner sein, und wenn man eine Probe sogleich aufsaugt, ist er kaum vorhanden, was sich bei einer Stickstoffblase von 20 mm Länge zeigte, die aufgefangen und dann auf Sauerstoffgehalt untersucht wurde:

Länge der Gasblase . . . . .	40 mm
Nach Absorption des O <sub>2</sub> in STOKESScher Flüssigkeit . . . . .	39,9 „

Beim Auffangen der Gasblase in Kelch *C* war also praktisch kein O<sub>2</sub> hereindiffundiert.

Schließlich wurde eine Gasblase, die etwa 84% O<sub>2</sub> enthielt, während ungefähr einer Stunde in *D* gelassen.

	Länge der Gasblase:
Im Anfang . . . . .	52,1 mm
Nach 70 Minuten . . . . .	52,2 „
„ erfolgter O <sub>2</sub> -Absorption . . . . .	8,6 „

Man braucht also eine Gasprobe, die in *D* aufgenommen ist, nicht sogleich zu analysieren.

Zur Prüfung der Genauigkeit wurde eine Anzahl Analysen von Luftproben vorgenommen mit einer Pipette, wovon das Kapillarrohr ungefähr 0,5 mm Durchmesser hatte.

Die letzte Versuchsreihe, die angestellt wurde, nachdem die früher erwähnten kleinen technischen Kautelen genommen worden waren, ergab folgende Zahlen (S. 21).

Zum Vergleich habe ich Zahlen von BEGEMANN beigegeben, der Quecksilber als Sperrflüssigkeit gebrauchte (Volum der Kapillare pro Millimeter 0,853 cmm).

BEGEMANN.

Länge der Luftblase	O <sub>2</sub> -Gehalt in %	Länge der Luftblase	O <sub>2</sub> -Gehalt in %
256,0	20,9		
227,5	20,9		
243,0	20,8		
211,0	20,9		
119,0	21,0	96,7	21,2
110,5	20,8	97,9	21,2
106,0	20,8	99,4	20,9
112,0	21,0		
60,0	20,0	51,9	21,2
63,0	20,6	47,6	21,0
71,5	20,3	51,2	21,2
58,5	19,7		

Nach KROGH enthält die Luft 20,95% O<sub>2</sub>.

BEGEMANN erhielt also bei größeren Luftproben (mehr als 100 cmm) sehr gute Resultate, mit kleineren Gasmengen erhält er regelmäßig zu geringe Werte. Dagegen sind meine Ergebnisse alle um etwa 0,15% zu hoch, dabei aber unter sich sehr gleichmäßig. Ein Korrekturfaktor 0,993 könnte eventuell angewandt werden.

Auch bei der Analyse von Gasgemischen, die wenig O<sub>2</sub> enthalten, sind die Resultate noch sehr befriedigend: die Übereinstimmung zwischen den berechneten und mit der Pipette bestimmten Sauerstoffwerten war fast immer sehr gut. Da diese Ausführung einer Analyse nur eine kurze Zeit beansprucht, habe ich auch den Sauerstoffgehalt der in den Saturatoren vorhandenen Gasgemische mit der Pipette bestimmt, da ein Haldane-Apparat umständlicher im Gebrauch ist.

Zur Bestimmung der Sauerstoffkapazität wurde die kolorimetrische Methode nach SAN-YIN-WONG benutzt, womit man den Eisengehalt des Blutes bestimmt.

Zwar hat BARKAN behauptet, ein Teil des Bluteisens rühre nicht vom Hämoglobin her, allein LINTZELL und RADEFF konnten nachweisen, daß das Auftreten dieses „Serumeisens“ parallel geht mit einer Verringerung der mit Hilfe von 1/10 n HCl aus der betreffenden Blutprobe zu erhaltenen Hämatinmenge. Die Hämatinbildung aus Oxyhämoglobin durch Salzsäure ist zur quantitativen Bestimmung des Blutfarbstoffes also weniger geeignet, während der Fe-Gehalt des Blutes anscheinend noch immer das beste Maß für die Bestimmung der O<sub>2</sub>-Kapazität des Blutes ist.

Bei der Ausführung der Bestimmungen wurde mit Hilfe der Satorpipette eine Blutprobe abgemessen und unter 1 ccm Wasser in ein Wägegläschen eingelassen. Die Abmessung fand also in derselben Weise statt, wie die Beschickung der Birnen des BARCROFT-Apparates mit Blut. Das Wasser-Blutgemisch wurde quantitativ in ein PYREX-Glasrohr überführt (Nachspülen mit Wasser), das etwa 2 cm Durchmesser hatte und bis auf 25 ccm graduiert war. Bei der Oxydation mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und KClO<sub>3</sub>

wurde über einem Mikrobrenner erhitzt unter fortwährendem Schütteln des unter einem Winkel von etwa 45° gehaltenen Glasrohres. Man braucht die Blutproben nicht sofort zu verarbeiten; allein, bei längerem Stehen tritt bei der Oxydation zumeist viel Schaum auf.

Die Abmessung der auf Fe zu prüfenden und der verdünnten Standardlösung fand nicht in den oben erwähnten Glasröhren, sondern nachdem die mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und KClO<sub>3</sub> behandelte Flüssigkeit mit destilliertem Wasser bis auf 12 ccm gebracht und abgekühlt worden war, wurde sie quantitativ in einen Maßkolben von 25 ccm Inhalt überführt, worin nun auch das zur kolorimetrischen Bestimmung benötigte KCNS und Wasser bis auf 25 ccm beigegeben wurden. Es wurde ein KLETT-Kolorimeter benutzt.

### § 2. Versuchsergebnisse.

Tabelle 5. Versuch mit BARCROFT-Apparat.

Versuchs-Nr.	O <sub>2</sub> -Druck im Saturator	Vom Blut aufgenommene O <sub>2</sub> -Menge	Korrektur für aufgenommenen O <sub>2</sub> und abgegebenen N <sub>2</sub>	Vom Hb. gebunden	O <sub>2</sub> -Kapazität	Sättigung des Hb. in 1 %	Bo
1	156	—	—	—	60,6	—	744,6
2	4,25	49,9	-2,0 + 1,03 = 0,97	48,93	60,2	18,8	744,6
3	17,85	22,0	-1,85 + 0,99 = 0,86	21,14	61,0	65,3	743,8
4	9,7	47,37	-1,98 + 1,02 = 0,96	46,41	62,75	15,9	744,1

Inhalt der Saturatorpipette: 0,3544 ccm.

1 ccm Blut bindet  $1/0,3544 \times 61,14 = 172,6$  Einheiten = 180,6 cmm O<sub>2</sub>.  
(1 Teilstrich der BARCROFT-Burette errechnet mit 1,0464 mm.)

Tabelle 6. (Versuch mit Pumpe.)

*Rana esculenta*, 8<sup>1</sup>/<sub>2</sub> ccm Blut von 7 Tieren.

Versuchs-Nr.	O <sub>2</sub> -Druck im Saturator	O <sub>2</sub> -Menge ausgepumpt	Gelöstes O <sub>2</sub>	Gebundenes O <sub>2</sub>	Sättigungsgrad in 1 %	Bo
1	156	8,8	0,096	8,705	98,2	744,5
2	12,8	1,06	0,008	1,07	12,3	742,9

Fe-Bestimmung: Vergleichsflüssigkeit enthielt 1 Teil Standard-FI (0,1 mg Fe pro Kubikzentimeter) auf 1 Teil Wasser.

Kolorimeterzahlen: 12,4/30,0    13,96/30,0    13,47/30,0.

Mittelwert: 13,27/30,0.

O<sub>2</sub>-Kapazität:  $13,27/30,0 \times 0,1 \times 401 \times 1/2 = 8,87$  ccm.

Inhalt der Saturatorpipette: 0,0457 ccm.

1 ccm Blut bindet 193,8 cmm O<sub>2</sub>.

In Abb. 8 ist die auf Grund der erwähnten Zahlen konstruierte Dissoziationskurve abgebildet. Zum Vergleich finden sich dort auch die Kurve für eine schwache Lösung von Froschhämoglobin bei 20°, die erhalten wurde durch Interpolation der von MAČELA u. SELISKAR gegebenen Zahlen und Kurven bei 15,25 und 35°, und die Kurven von BARCROFT für

Tabelle 7. (Versuch mit Pumpe.)

Versuchs-Nr.	O <sub>2</sub> -Druck im Saturator	O <sub>2</sub> Menge ausgepumpt	Gelöster O <sub>2</sub>	Gebundener O <sub>2</sub>	Sättigungsgrad in 1%	Bo
	25,9	11,3	0,016	11,015	84,1	748,7
	22,65	8,0	0,015	7,985	61	749,6

Fe-Bestimmung: Vergleichsflüssigkeit enthielt a) Standard-Fl, b) 1 Teil Standard-Fl auf 2 Teile Wasser.

1 ccm Standard-Fl enthielt 0,0009 751 g Fe.

Kolorimeterzahlen a) 10/26,83,

b) 40/39,8.

O<sub>2</sub>-Kapazität:  $10/26,83 \times 0,0975 \times 401 = 14,57$  cmm.

$40/39,8 \times 1/3 \times 0,975 \times 401 = 13,1$  cmm.

Im Mittel: 13,83 cmm.

Inhalt der Saturatorpipette: 0,0457 ccm.

1 ccm Blut bindet 302,8 cmm O<sub>2</sub>.

Tabelle 8. *Rana esculenta*, 9 ccm Blut von 7 Tieren.

Versuchs-Nr.	O <sub>2</sub> -Druck im Saturator	O <sub>2</sub> Menge ausgepumpt	Gelöster O <sub>2</sub>	Gebundener O <sub>2</sub>	Sättigungsgrad in 1%	Bo
	156	10,6	0,096	10,54	—	748
	3,9	2,44	—	2,44	23,2	744
	10,1	5,8	—	5,8	55,2	755
	35	9,87	0,007	9,86	94	748

Inhalt der Saturatorpipette: 0,0457 ccm.

1 ccm Blut bindet 230,6 cmm O<sub>2</sub>.

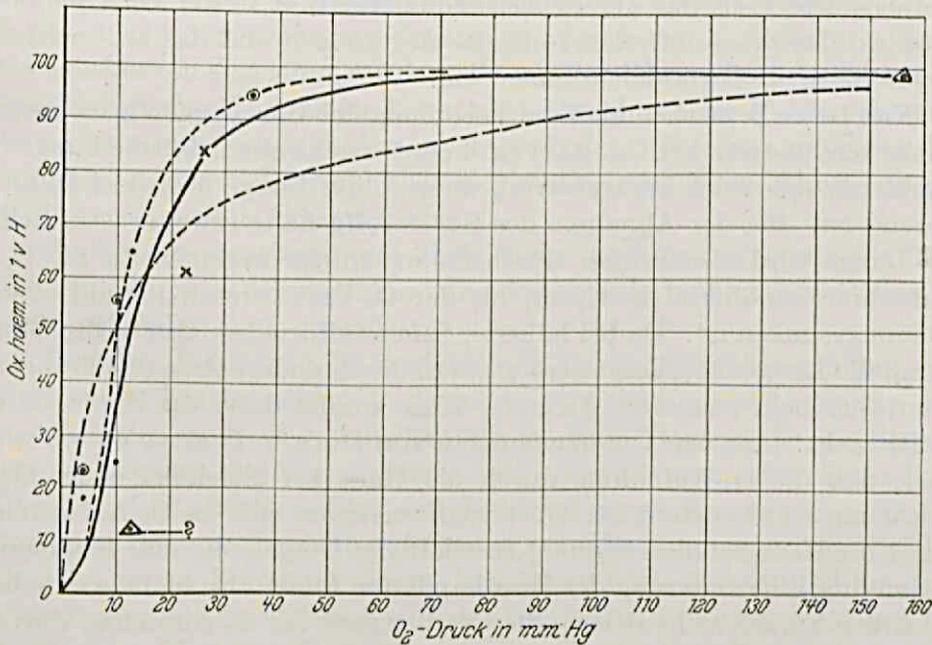


Abb. 8. O<sub>2</sub>-Dissoziationskurve vom Blute von *Rana esculenta* bei 20°. Die zweite Blutkurve stammt von BARCROFT und bezieht sich auf Menschenblut bei 38°. Die hyperbolische Kurve ist eine Dissoziationskurve von einer schwachen Lösung von Froshhämoglobin, interpoliert für 20° nach Daten von ANSON und MIRSKY.

Menschenblut bei Körpertemperatur bei einem Kohlensäuredruck von 0 mm.

Auffallend ist die hohe Konzentration des Hämoglobins im Froschblut. Die Werte für die  $O_2$ -Kapazität weichen unter sich stark ab, sind aber mindestens ebenso groß wie diejenigen vom Menschenblut.

Nachdem nun der Verlauf der Dissoziationskurve festgestellt ist, lohnt es sich, unter Berücksichtigung anderer Untersuchungen, über den  $O_2$ -Transport einige Bemerkungen über den Blutkreislauf anzustellen. Leider habe ich nicht die Dissoziationskurve bei Anwesenheit von Kohlensäure bestimmen können. Mit einem modifizierten BARCROFT-Apparat wird sich dies wohl ermöglichen. Diesbezügliche Versuche hoffe ich noch anzustellen.

Bekanntlich hat der Frosch eigentlich drei Kreisläufe: durch *Lungen, Haut und Körper*. Das sauerstoffreiche Blut aus dem linken Atrium bleibt in der linken Ventrikelhälfte, wahrscheinlich ohne sich weitgehend mit dem sauerstoffarmen Blute aus dem rechten Atrium zu mischen, da dies durch die vielen Herztrabekeln verhindert wird. In der Tat sieht man am pulsierenden Froschherzen, daß in der rechten Hälfte des Ventrikels das Blut dunkler ist als in der linken.

Über den weiteren Verlauf des Blutstromes können wir uns an der Hand der schönen Abbildungen GRAHAM KERRS eine Vorstellung machen<sup>1</sup>. Für uns genügt die Bemerkung, daß durch die Art der Kontraktion des Ventrikels (zuerst wird die rechte Hälfte größtenteils entleert) und durch ein System von Septen und Klappen im Conus und Truncus arteriosus das am *meisten* reduzierte Blut in die Vena pulmonotanea, das sauerstoffreichere in die Aortabögen und das am meisten oxydierte in die Carotiden kommen soll!

Nun ist zu bemerken, daß die Verteilung der Blutmengen keineswegs immer dieselbe ist. Frl. CH. BASTERT konnte nachweisen, daß die Lungenkapillaren sich stark kontrahieren, wenn in der Lunge noch viel  $O_2$  anwesend ist. Bei der Abnahme des Sauerstoffgehalts erweitern sie sich, die Lunge wird also stärker durchströmt; infolgedessen bleibt die  $O_2$ -Aufnahme annähernd konstant, bis der  $O_2$ -Partiardruck bis auf etwa 50 mm gesunken ist. Da bei höheren Sauerstoffdrucken also wenig Blut durch die Lungenkapillaren strömt, muß durch andere Äste des Truncus arteriosus mehr passieren. In erster Linie kommt dafür die Hautarterie in Betracht. Aus den Untersuchungen von DOLK u. POSTMA wissen wir aber, daß die  $O_2$ -Aufnahme durch die Haut bei gleichbleibender  $O_2$ -Spannung sehr konstant ist. Obendrein verringert sich die  $O_2$ -Aufnahme durch die Haut bei niedrigem  $O_2$ -Druck in der Umgebung; eine Kompensation durch Erweiterung der Hautkapillaren findet also nicht statt! Es scheint mir auch nicht richtig, die Verringerung der  $O_2$ -Aufnahme durch

<sup>1</sup> Eine genaue Darstellung findet sich außer in den Originalarbeiten GR. KERRS auch im Lehrbuch der vergleichenden Anatomie von IHLE, VAN KAMPEN, NIERSTRASS und VERSLUYS.

die Haut auf verminderte Blutzufuhr infolge stärkerer Durchströmung der Lungen zurückzuführen; dies wäre ein vollkommen unverständlicher Mechanismus und obendrein steht die Annahme einer Durchströmung der Haut mit konstanten Blutmengen im Einklang mit den weiter unten zu erwähnenden Messungen von CAMPBELL. Wir werden also annehmen müssen, daß das überschüssige Blut in Aorta und Carotiden fließt.

Einige wertvolle Daten liefert CAMPBELL, indem er die  $O_2$ - und  $CO_2$ -Partiardrucke im Körper der Kröte und des Grasfrosches (*Rana temporaria*) bestimmte.

Bei der Kröte fand er bei  $17^\circ$  unter der Haut eine  $O_2$ -Spannung von 49 mm und eine  $CO_2$ -Spannung von 12 mm. Bei *Rana temporaria* bei  $17^\circ$  unter der Haut eine  $O_2$ -Spannung von 48 mm, eine  $CO_2$ -Spannung von 14 mm; im Körper eine  $O_2$ -Spannung von 28 mm, eine  $CO_2$ -Spannung von 14 mm.

Die Unterschiede zwischen *Rana temporaria* und *Bufo* sind minimal; wir können die oben erwähnten Zahlen wohl ohne weiteres auch für *Rana esculenta* benutzen.

Daß im ganzen Körper ein Kohlensäuredruck von ungefähr 14 mm herrscht, ist bei der sehr großen Diffusionsgeschwindigkeit dieses Gases begreiflich, ist übrigens auch in Übereinstimmung mit den Befunden von KROGH und Fr. CH. BASTERT, die in der Lunge immer 1—2%  $CO_2$  fanden, also Partiardrucke von 7—15 mm.

Die von WASTL u. SELISKAR berechneten  $CO_2$ -Spannungen in der Aorta möchte ich nicht berücksichtigen, da sie aus Kohlensäure-Dissoziationskurven abgeleitet wurden, die mit der Pumpe bestimmt wurden. Der biologische Wert dieser Kurven ist aber durch die Untersuchungen von HENRIQUES sehr problematisch geworden. WASTL u. SELISKAR bestimmen nämlich die Kohlensäure-Dissoziationskurven, indem sie mit Hilfe von Säure alle  $CO_2$  austreiben.

HENRIQUES bestimmt mit Hilfe einer ingenieösen Technik die  $CO_2$ -Mengen, die vom Hämoglobin, und die, welche auf andere Weise im Blute gebunden sind, gesondert.

Nur die „Reaktion“  $Hämoglobin + CO_2 \rightleftharpoons „Carbhämoglobin“$  verläuft nach ihm in beiden Richtungen genügend schnell, um für den Kohlensäuretransport von Bedeutung zu sein. Dagegen ist die Stromgeschwindigkeit des Blutes immer viel zu groß, um ein vollständiges Gleichgewicht zwischen Blut und Kohlensäure zu ermöglichen. Daher darf man denn auch nicht auf Grund von Bestimmungen der totalen  $CO_2$ -Menge im Blut aus einem beliebigen Blutgefäß mit Hilfe einer Dissoziationskurve, die sich auf das totale  $CO_2$ -Bindungsvermögen bezieht, einen Wert für die Kohlensäuretension im betreffenden Gefäß ermitteln wollen.

In Abb. 9 ist das Schema des Blutkreislaufes wiedergegeben, nebst

einigen der Literatur entnommenen Daten. Es mögen nun einige vorläufige Schlüsse folgen bezüglich der Sauerstoffaufnahme und Abgabe.

Da unter der Haut ein  $O_2$ -Partiardruck von etwa 50 mm herrscht, wird in den in der Haut liegenden Blutgefäßen der  $O_2$ -Druck nicht oder nicht viel geringer sein. An der Hand der Dissoziationskurve sehen wir, daß das Hämoglobin dann größtenteils mit  $O_2$  gesättigt ist. Dies wird auch noch der Fall sein, wenn der  $CO_2$ -Einfluß auf die Form der Disso-

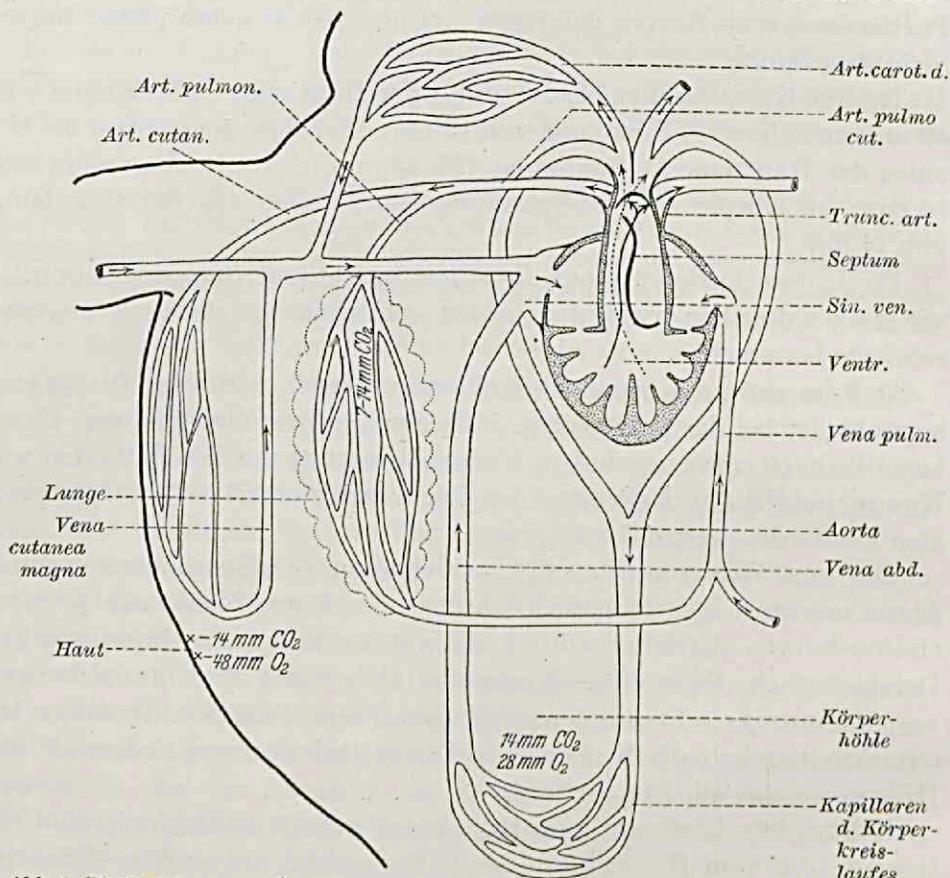


Abb. 9. Blutkreislauf vom Frosch nebst einigen Daten über die Gastension in Lungen und Geweben.

ziationskurve sehr stark ist. Die Behauptung von DOLK u. POSTMA, daß in der Haut die Diffusion als „limiting factor“ auftritt, scheint mir bei einem Sauerstoffdruck von 160 mm in der Umgebung des Tieres nicht richtig zu sein. Sie hätten, um dies zu beweisen, nachweisen müssen, daß bei höheren  $O_2$ -Drucken die  $O_2$ -Aufnahme sich erhöht. Daß bei etwa 100 mm  $O_2$ -Druck in der Umgebung die  $O_2$ -Aufnahme, wie sie fanden, geringer wird, erweist meines Erachtens nur, daß unter dieser Bedingung die Diffusion limitiert, was auch in Übereinstimmung ist mit der von CAMPBELL und mir gefundenen Daten, was aus folgendem sich ergibt.

Die Menge des durch die Haut diffundierenden  $O_2$

$$= \frac{(p_2 - p_1)l}{d} \times c,$$

oder

$$= (p_2 - p_1) K,$$

$$= (160 - 50) K,$$

$p_2$  =  $O_2$ -Druck in der Umgebung,

$p_1$  =  $O_2$ -Druck unter der Haut,

$l$  = Dicke der Haut,

$d$  = Oberfläche der Haut,

$c$  = Diffusionskonstante in der Haut.

$l$ ,  $d$  und  $v$  sind natürlich als invariabel durch eine konstante  $K$  zu ersetzen.

Diese Menge  $S$  = die Menge des vom Blute aufgenommenen  $O_2$ . Nehmen wir an, daß bei Verringerung des Außendruckes, um 25 mm noch dieselbe Menge  $O_2$  vom Blut aufgenommen werden kann, dann muß  $p_2 - p_1$  denselben Wert haben wie bei einem Außendruck von 160 mm,  $p_2$  wird dann also 25 mm sein. Aus der Dissoziationskurve ist abzuleiten, daß bei noch niedrigeren Drucken jedenfalls ein viel geringerer Prozentsatz des Hämoglobins oxydiert wird. Daß DOLK und POSTMA bei 100 mm eine bedeutende Verringerung der  $O_2$ -Aufnahme finden ist dann auch verständlich. Bei 160 mm aber limitiert nicht die Diffusion, sondern die Blutmenge, die durch die Haut strömt.

Die Behauptung der oben erwähnten Autoren: die Lunge leistet, was die Hautatmung ihr zu leisten übrig läßt, bleibt natürlich zu Recht bestehen.

Die Sauerstoffaufnahme in der Lunge wurde von Frl. BASTERT bei verschiedenem Sauerstoffdruck untersucht. Bei Abtragung der betreffenden Partiardrucke auf der Abszisse eines Koordinatensystems und der  $O_2$ -Aufnahme pro Viertelstunde auf der Ordinate erhält sie eine Kurve, die zwei ziemlich scharfe Flexuren aufweist, bei ungefähr 120 und 60 mm  $O_2$ -Druck<sup>1</sup>.

Die Sauerstoffaufnahme in der Lunge ist, wie Frl. BASTERT fand, bei einem Partiardruck von 120—60 mm konstant, was durch eine vasomotorische Reaktion verursacht wird. Unterhalb 60 mm nimmt die Aufnahme ziemlich schnell ab. Dies sollte eine Folge der geringeren Diffusion sein, da die Kapillaren jetzt maximal erweitert sind. Man muß dann aber annehmen, daß ein großes Druckgefälle an beiden Seiten der Lungenwand besteht, da die Dissoziationskurve zeigt, daß bei 50—60 mm noch etwa 95% des Hämoglobins oxydiert wird. Selbst wenn der Einfluß der  $CO_2$  sehr groß ist, kann die Sättigung bei 70 mm nicht viel weniger als 95% betragen<sup>2</sup>. Indessen ist es in der Tat nicht unmöglich, daß die Lungenwand die Diffusion ziemlich stark herabsetzt, denn sie ist viel

<sup>1</sup> Vermutlich müßten diese Biegungen der Kurve bei einem etwas geringeren  $O_2$ -Druck liegen. Da der  $O_2$ -Druck in der Lunge während jeden Versuches sich natürlich verringert, lassen sich die zwei Übergangsstellen der Kurve nicht sehr genau feststellen.

<sup>2</sup> Wir erinnern aber daran, daß die Methode von CH. BASTERT nicht erlaubt, den Umkehrpunkt der Verbrauchskurve genau zu bestimmen. Wahrscheinlich liegt er bei niederer Sauerstoffspannung.

dicker als die Wand der Lungenbläschen der Säuger (hier ist bekanntlich das Druckgefälle sehr gering).

Dagegen möchte ich die Behauptung von Frl. BASTERT, daß die ziemlich stark erhöhte  $O_2$ -Aufnahme in der Lunge bei Partiardrucken oberhalb 120 mm auf einer erhöhten Sauerstoffaufnahme beruhe, in dieser Form ablehnen. Das Hämoglobin ist ja schon längst gesättigt bei 120 mm  $O_2$ -Druck in der Lunge; es wird bei noch höherem Druck nicht viel  $O_2$  mehr aufgenommen werden können. Nur die Menge des physikalisch gelösten  $O_2$  nimmt zu, aber das Quantum gelösten Sauerstoffes ist dem gebundenen gegenüber verschwindend klein (der Hämoglobingehalt ist ungefähr ebensgroß wie beim Menschen, man sehe Tabelle 5—8).

Was nun schließlich die *Abgabe* des  $O_2$  in den Geweben betrifft, davon läßt sich jetzt eigentlich noch nichts sagen. CAMPBELL fand, wenn er eine Luftblase in die Abdominalhöhle brachte, daß der  $O_2$ -Druck in dieser Blase mit der Zeit 28 mm betrug. Bei diesem Druck wird noch fast kein  $O_2$  abgegeben vom Hämoglobin. Es geht nicht an, anzunehmen, daß der Sauerstofftransport bei relativ hohem Druck in der Umgebung nur durch einfache Lösung vor sich geht, wie dies bei höheren  $O_2$ -Drucken bei einigen Wirbellosen der Fall ist, denn da genügte eine viel geringere Hämoglobinkonzentration, um das Zuwenig an gelöstem Gas bei niedrigem  $O_2$ -Druck in der Umgebung durch chemische Bindung zu ersetzen. Wahrscheinlich wird *in* den Geweben selbst ein niedrigerer  $O_2$ -Druck herrschen als in CAMPBELLs Luftblase. Der *Bohr*-Effekt nützt hier auch nichts, denn im ganzen Froschkörper herrscht fast derselbe  $CO_2$ -Druck wie in der Lunge.

Ich brauche übrigens wohl nicht hervorzuheben, daß die vorhergehenden Betrachtungen viel mehr Programmatisches als Erschlossenes enthalten. Erst wenn wir die  $O_2$ -Dissoziationskurven bei  $CO_2$ -Druck von 7—16 mm kennen, außerdem die  $O_2$ - und  $CO_2$ -Spannungen in verschiedenen großen Blutgefäßen tonometrisch bestimmt sein werden bei verschiedenen  $O_2$ -Partiardrucken in der Lunge und der Umgebung, werden wir vielleicht einen befriedigenden Überblick über den Sauerstofftransport erhalten. Auch die Rolle der Milz als eventuelles Blutreservoir wäre zu berücksichtigen.

Auf eines möchte ich noch hinweisen! In vielen Lehrbüchern der Zoologie wird behauptet, die Kaltblütigkeit der Reptilien und Amphibien wäre auf die Mischung von arteriellem und venösem Blut zurückzuführen. Die Tiere verkehrten eigentlich immer in einem asphyktischen Zustande. Daß beim Frosch (und wie GAARDER fand, beim Karpfen) der Sauerstoffkonsum mit steigendem  $O_2$ -Partiardruck erhöht wird, scheint in Übereinstimmung zu sein mit genannter Hypothese; allein bei anderen poikilothermen Tieren tritt eine Verringerung des Sauerstoffverbrauchs erst auf bei einem  $O_2$ -Partiardruck in der Umgebung von 40—50 mm, wie GAAR-

DER für *Tenebrio*, DOLK u. v. D. PAAUW für *Lumbricus* feststellten. Auch weist die von CAMPBELL gefundene O<sub>2</sub>-Spannung im Cavum abdominale von *Rana* auf eine positive, wenn auch wahrscheinlich viel niedrigere, Gewebsspannung hin.

### III. Planorbis.

Ich habe auch einige Versuche über das Blut von *Planorbis corneus* angestellt. Die wenigen Daten haben natürlich nur vorläufigen Wert, speziell die, die sich auf der Dissoziationskurve beziehen.

#### § 1. Technisches.

Die relative Sättigung des Hämoglobins wurde von mir in derselben Weise bestimmt wie die von *Helix*-Blut.

Die benutzten Küvetten mußten infolge der starken Lichtabsorption durch das Hämoglobin viel enger sein. Ihre innere Dicke wurde mit Hilfe eines ZEISS-Mikroskops bestimmt, welches auf kleinste Staubpartikelchen auf der Innenseite der Wände eingestellt wurde. Die abgelesene Tourenzahl der Mikrometerschraube ermöglichte durch einfache Multiplikation mit 50  $\mu$  die Berechnung des gesuchten Abstandes der Seitenwände. Da es sich hier um sehr kleine Blutmengen handelt (30 Tiere geben nur 5 bis 6 ccm Blut) und beim Herstellen der Gasgemische durch das Evakuieren und Zugeben von N<sub>2</sub> das Blutvolumen sich bald nicht unbeträchtlich ändert, habe ich nur vier Punkte bestimmen können. Wiederholung der Versuche war umsomehr zwecklos, als es sich zeigte, daß die Konzentration und die Affinität für O<sub>2</sub> des Hämoglobins außerordentlich stark schwankt.

Das Blut erhielt ich, nachdem die Tiere sorgfältig mit Fließpapier getrocknet waren, durch Einstich in den Fuß. Das Blut wurde filtriert. Die Eisenbestimmungen wurden an 1 ccm Blut vorgenommen. In Abb. 10 und 11 findet sich ein ausgearbeitetes Versuchsergebnis.

Temperatur des untersuchten Blutes 20°.

#### § 2. Versuchsergebnisse.

Tabelle 9. *Planorbis*.

Kolorimeterzahlen.

	0% Ox.-Häm.	37% Ox.-Häm.	63% Ox.-Häm.	100% Ox.-Häm.	Versuch I	Versuch II
525	7	6 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{3}{4}$	6	6	6 $\frac{7}{8}$
530	4 $\frac{1}{2}$	3	2 $\frac{3}{4}$	2 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{5}{8}$	4
535	2	2	1 $\frac{7}{8}$	1 $\frac{1}{4}$	1 $\frac{3}{8}$	2 $\frac{1}{4}$
540	2	1 $\frac{1}{2}$	1 $\frac{1}{4}$	1	1	1 $\frac{7}{8}$
545	2	1 $\frac{1}{2}$	1 $\frac{3}{4}$	1 $\frac{1}{2}$	1 $\frac{1}{2}$	1 $\frac{1}{2}$
550	2	2 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{1}{2}$	3	2 $\frac{3}{4}$	2
555	2	3	3 $\frac{3}{4}$	5	4 $\frac{3}{4}$	2 $\frac{1}{4}$

Tabelle 9 (Fortsetzung).

	0% Ox.-Häm.	37% Ox.-Häm.	63% Ox.-Häm.	100% Ox.-Häm.	Versuch I	Versuch II
560	2	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	6	5 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	2 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>
565	2	3	3 <sup>1</sup> / <sub>8</sub>	4	4	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
570	2	2	2	2	2	2
575	2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	1 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	1	1 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	2
580	5	3 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	3	3 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	4 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>
585	13	14	15	17	15 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	13
590	30	39	42 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	60	54 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	32

I. O<sub>2</sub>-Druck im Saturator: 9,5 mm Hg: Sättigung: 87%.

II. „ „ „ 3,6 mm Hg: „ 15%.

Sauerstoffkapazität nach Fe-Bestimmung, berechnet (pro 1 ccm Blut).

	Kolorimeterzahlen	O <sub>2</sub> -Kapazität in ccm	Mittelwert in cmm
1	30/47,65	25,2	25,3
2	25/39,64	25,3	
3	25/39,64	25,4	

Das Blut bindet also 2,53% O<sub>2</sub>.Tabelle 10.  
Kolorimeterzahlen<sup>1</sup>.

	0% Ox.-Häm.	97% Ox.-Häm.	63% Ox.-Häm.	100% Ox.-Häm.	Versuch I	Versuch II
525	43	42 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	40 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	39 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>		41
530	37 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	31 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	28 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	30 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
535	31	24	17 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	14 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
540	25 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	20	15	12 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	17 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	20 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>
545	21	19	17 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	16 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	18 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	19 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>
550	19	21 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	23	26 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	21 <sup>1</sup> / <sub>9</sub>	21
555	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	31 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	37 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	24 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	23
560	19 <sup>3</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>3</sub>	33 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	40	25 <sup>3</sup> / <sub>4</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
565	21 <sup>4</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	27 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	32 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>
570	26 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	22 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	21	18 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	22 <sup>2</sup> / <sub>3</sub>	25
575	35 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	25 <sup>1</sup> / <sub>6</sub>	18	13 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	23 <sup>5</sup> / <sub>6</sub>	31
580	47 <sup>1</sup> / <sub>4</sub>	39	30 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	24 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	35	41 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>

I. O<sub>2</sub>-Druck im Saturator: 10,4 mm Hg. Sättigung: 45,5%.

II. „ „ „ 8,9 mm Hg. „ 30,3%.

<sup>1</sup> Die hier gegebenen Zahlen geben nicht die im Vergleich mit reinem Wasser durchgelassenen Lichtmengen an, sondern sind durch 4 zu dividieren. Am Kolorimeter befindet sich eine Vorrichtung, die es gestattet, die Intensität des Lichtes zu verstärken, was bei stark gefärbten Flüssigkeiten von Vorteil ist.

Sauerstoffkapazität.

I.  $5\frac{1}{2}$  cem Blut von 28 Tieren.

Nach kräftigem Schütteln 2 Proben von 1 cem in v. SLIJKKE-Pumpen und 2 Proben für die Fe-Bestimmung in Wäagegläschen.

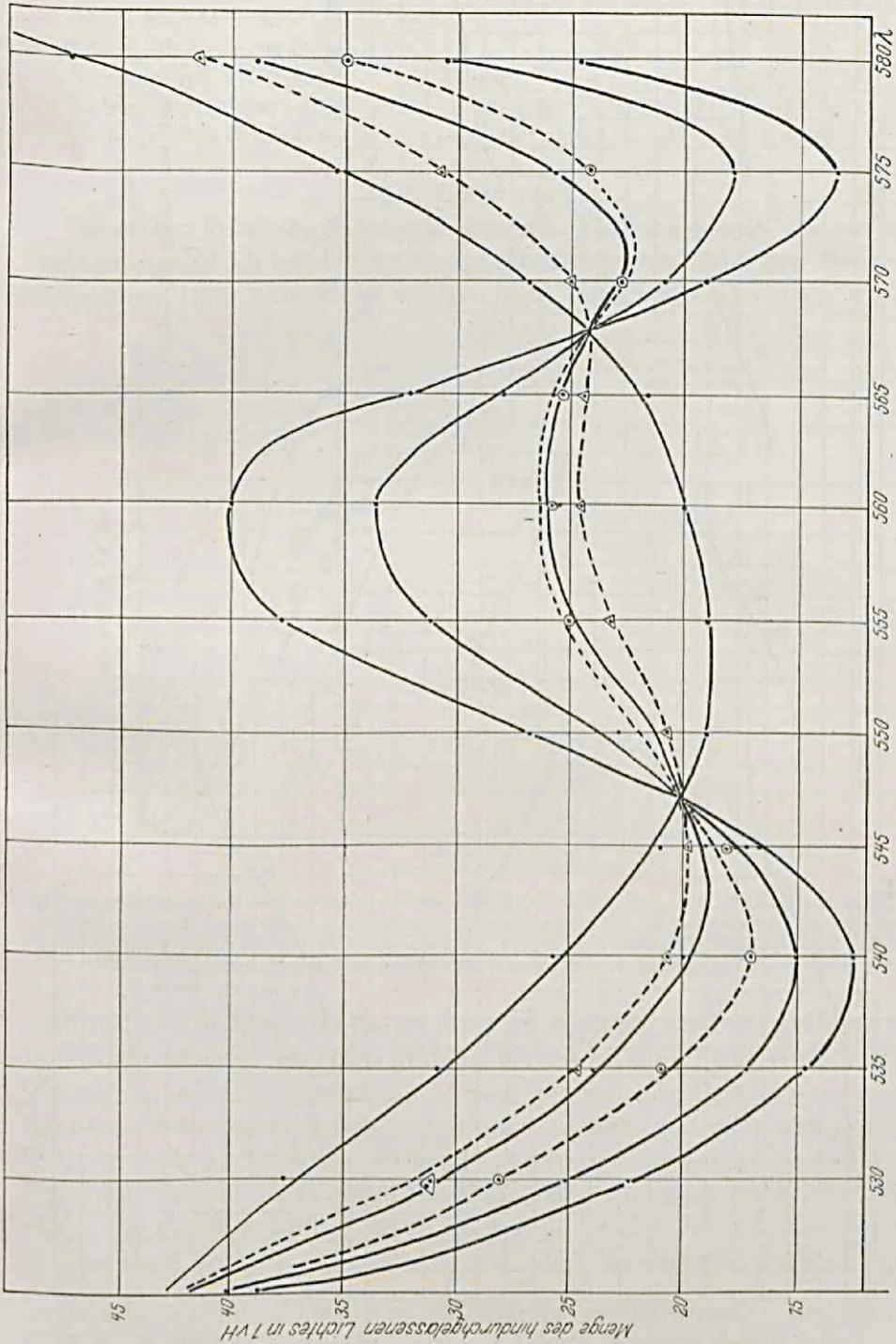


Abb. 10. Lichtabsorptionskurven von *Planorbis*-Blut. Dierausgezogenen Kurven beziehen sich auf Blut mit 0, 40, 60 und 100% Oxy. Häm. Die gestrichelte auf Tab. 2.

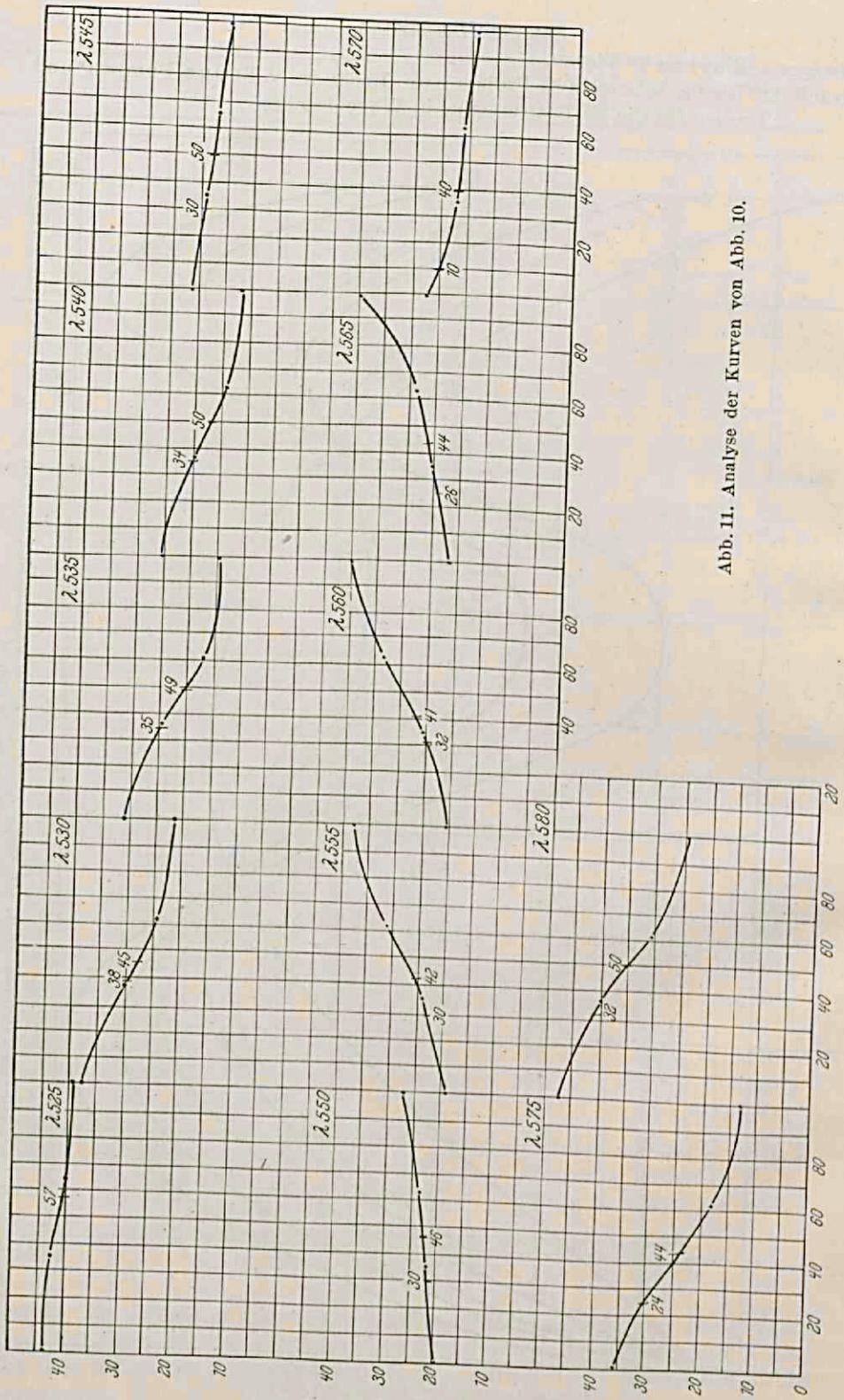


Abb. 11. Analyse der Kurven von Abb. 10.

1. Ausgepumpt 35,5 Einh. }  
 2. „ 35,3 „ } im Mittel 35,4 = 17,1 emm.

Kolorimeterzahlen: 10,2/30; 11,55/30. Mittelwert: 10,875/30.

O<sub>2</sub>-Kapazität des Hämoglobins:  $10,875/30 \times 0,1 \times 401 = 14,54$  emm.

Also 1,45% O<sub>2</sub> bei 160 mm Druck.

II. 6 emm Blut von 26 Tieren.

Ausgepumpt 37,53 Einh. = 18,76 emm.

Kolorimeterzahlen: 10,61/30,0; 10,22/30,0. Mittelwert: 10,4/30,0.

O<sub>2</sub>-Kapazität des Hämoglobins:  $10,4/30,0 \times 0,1 \times 401 = 13,9$  emm.

§ 3. Diskussion.

Die ersten Versuche wurden im Sommer 1929 angestellt. Zu meinem Erstaunen fand ich bei der Spektrophotometrie vom Blute der Tiere, die im Sommer 1930 untersucht wurden, eine etwa zweimal größere Licht-

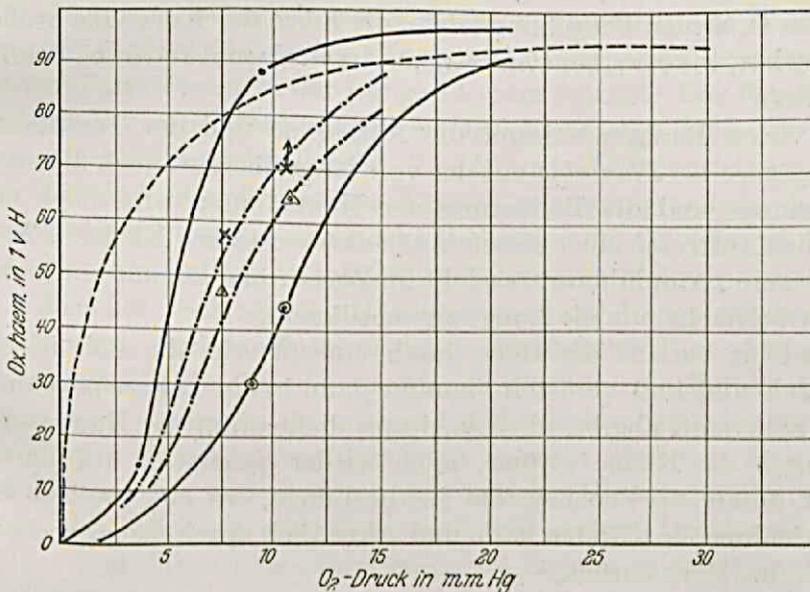


Abb. 12. O<sub>2</sub>-Dissoziationskurve von: 1. *Planorbis*-Blut bei 20° ——— 2. *Planorbis*-Blut bei 20° nach Daten von J. LEITCH — · — · — 3. *Planorbis*-Blut bei 20° bei Anwesenheit von 14 mm CO<sub>2</sub> nach Daten von J. LEITCH — · — · — Δ — · — · — 4. Von einer verdünnten Lösung von *Planorbis*-Hämoglobin nach Daten von ANSON und MIRSKY für 20° interpoliert - - - - -.

absorption. Im Einklang damit fand ich auch ein zweimal größeres O<sub>2</sub>-Bindungsvermögen des Hämoglobins, berechnet nach Fe-Bestimmungen. Obendrein hatte das Hämoglobin, nach den wenigen Bestimmungen der relativen Sättigung zu urteilen, eine um die Hälfte geringere Affinität für O<sub>2</sub><sup>1</sup>. In Abb. 12 finden sich die vier von mir und außerdem zwei von KROGH u. LEITCH bestimmte Punkte. Dazu kommen noch zwei Versuche, die von KROGH u. LEITCH angestellt wurden, wobei das Blut bei Anwesenheit von 2% CO<sub>2</sub> saturiert wurde. Wie man sieht, darf man

<sup>1</sup> Selbst wenn das Tier sich in sein Gehäuse zurückgezogen hat findet durch die Mantelwand hindurch Gasaustausch mit der Umgebung statt.

eigentlich nicht von einer Dissoziationskurve von *Planorbis*-Blut reden. Die Schwankungen in den Versuchen mit verschiedenen Blutproben sind außerordentlich groß. Daneben scheint die Bedeutung des Einflusses der Kohlensäure ganz zurückzutreten.

Ob die Unterschiede auf eine Anpassung seitens der Tiere an ein spezielles Milieu oder auf „Rassen“-Unterschiede zurückzuführen sind, ließe sich nur durch ein großes Zahlenmaterial entscheiden. Für eine genaue Untersuchung des  $O_2$ -Transports wäre ein einheitliches Material notwendig.

Indessen sind die gewonnenen Zahlen doch nicht gänzlich wertlos. Die Kurven verlaufen im ganzen ziemlich steil und es ist sehr fraglich, ob für diese Tiere mit ihrem geringen Hämoglobingehalt, wo also der physikalisch gelöste  $O_2$  eine große Rolle spielt, und die auch nicht in einer geradezu  $O_2$ -armen Umgebung leben, die Form der Kurve die große Bedeutung hat, wie etwa bei *Chironomus*, *Arenicola* und anderen „Schlamm-wohnern“.

In vielen Punkten stimmt die Aufnahme und der Transport der Atmungsgase bei *Planorbis* mit der von *Rana* überein: auch hier ist eine Vorratslunge und die Bedeutung der Hautatmung wird noch erhöht durch das Auftreten einer sogenannten akzessorischen Kieme. *Planorbis* ist aber kein „Amphibium“, sie lebt im Wasser und kommt nur bisweilen an die Oberfläche, um die Lunge zu ventilieren.

Das Blut verläßt das Herz durch eine Arterie, die sich in Eingeweidesack und Fuß verästelt, kommt dann in ein Lakunensystem, wo es den Sauerstoff abgibt, aber da, wo es dicht unter der Haut vom Fuß und durch die Kieme strömt, auch wieder Sauerstoff aufnimmt; es kommt durch ein Venensystem in die Lunge, wo eine weitere Sauerstoffaufnahme stattfinden kann und schließlich durch die große Lungenvene in das Herz zurück.

Es leuchtet ein, daß, da das Blut durch die vorhergehende  $O_2$ -Aufnahme in der Haut nie gänzlich sauerstofffrei in die Lunge kommt, es bei niedrigerem  $O_2$ -Drucke in der Mantelhöhle daselbst keinen Sauerstoff mehr aufnehmen kann<sup>1</sup>. Da nach G. BUNSCHOTEN u. C. FOURNIER der Druck in der Lunge bis etwa 10 mm heruntergehen kann, während das Tier sich in ventiliertem Wasser von 20° befindet, scheinen Haut- und Kiemenatmung wenigstens bei höheren Temperaturen bei weitem nicht die Bedeutung zu haben, wie I. LEITCH meinte. Sie behauptete, daß *Planorbis*, ohne seine Lunge zu gebrauchen, noch im Wasser mit einer Sauerstoffspannung von etwa 50 mm leben kann. Das ist aber nicht richtig: HAZELHOFF konnte nachweisen, daß die Schnecke nach oben kriecht, um die Lunge zu ventilieren, wenn diese noch etwa 4%  $O_2$  (also  $O_2$  mit einer Spannung von ungefähr 30 mm) enthält. Daß überhaupt eine so starke Abnahme stattfindet, wäre nicht in Übereinstimmung mit

einer genügenden Sauerstoffzufuhr ins Blut durch die Haut hindurch. *Planorbis* kommt im Sommer meistens zwei- bis dreimal pro Stunde an die Oberfläche.

HAZELHOFF konnte eine sehr regelmäßige Abnahme der Sauerstoffspannung, C. FOURNIER u. G. BUNSCHOTEN einen ziemlich konstanten Sauerstoffverbrauch in der Lunge nachweisen bei Partiardrucken von 120 bis ungefähr 40 mm. Da der Sauerstoffverbrauch oberhalb 120 mm Partiardruck in der Lunge schnell ansteigt, die Sauerstoffzufuhr in den Geweben dann also limitierender Faktor ist, muß auch die Sauerstoffabgabe in den Geweben unter diesen Umständen konstant sein. Dies wird nun ermöglicht durch das Hämoglobin.

Natürlich nimmt die Menge des physikalisch im Blute gelösten Sauerstoffs stetig ab, die Sauerstoffabgabe in den Geweben müßte auch regelmäßig abnehmen, wenn von einem gewissen Punkte an das Hämoglobin nicht anfang, einen Teil seines Sauerstoffs abzuspalten. Dies geschieht, wenn der Partiardruck in der Lunge 140 mm beträgt. Der Druck an der Peripherie der vom Blute umspülten Gewebe beträgt dann, wie aus der Dissoziationskurve ersichtlich ist, 7—15 mm<sup>1</sup>. Nehmen wir an 10 mm. Dieser Druck wird sich nun eine Zeitlang sehr wenig ändern, denn eine geringe Erniedrigung hat eine starke Reduktion des Oxyhämoglobins zur Folge. Der abgegebene Sauerstoff verhütet eine weitere Erniedrigung des O<sub>2</sub>-Druckes. Solange das Hämoglobin in der Lunge mit Sauerstoff gesättigt wird, wird der Zustand sich kaum ändern. Eine *absolute* Konstanz ist natürlich nicht zu erwarten, da die totale O<sub>2</sub>-Zufuhr doch allmählich *etwas* abnimmt. Je weniger Sauerstoff in physikalisch gelöstem Zustande den Geweben zugeführt wird, je mehr wird vom Hämoglobin abgegeben werden und dies hat, wie aus der Dissoziationskurve ohne weiteres ersichtlich ist, eine wenn auch sehr geringe Druckerniedrigung im Blute und damit eine etwas geringere Zufuhr zu den Geweben zur Folge.

Bei einem Druck von 25—30 mm in der Lunge wird das Hämoglobin nur teilweise oxydiert, und da eine Sättigung von 90% bei 10—20 mm Partiardruck stattfindet, sehen wir, daß der Druckunterschied zwischen Lunge und Blut nicht viel mehr als 10—15 mm beträgt. Die oben erwähnten Zahlen 25—30 mm bedürfen noch einer Erläuterung. Solange das Hämoglobin in der Lunge fast gänzlich oxydiert wird, kann in den Geweben dieselbe Menge O<sub>2</sub> abgegeben werden. Wenn nun von den Damen FOURNIER u. BUNSCHOTEN gefunden wurde, daß der Sauerstoffkonsum unterhalb 30 mm stark abnimmt, dann dürfen wir daraus schließen, daß nun das Hämoglobin nur teilweise mit O<sub>2</sub> gesättigt wird.

<sup>1</sup> Die Sättigung des Hämoglobins beträgt nur noch ungefähr 70%.

### Zusammenfassung.

1. Eine spektro-kolorimetrische Methode zur Bestimmung der relativen Sättigung von Blutpigmenten mit Sauerstoff wird beschrieben.
  2. Die Dissoziationskurve vom Blute von *Helix pomatia* wurde bestimmt; sie zeigt eine ähnliche Entladungsspannung wie die von HOGBEN u. PINHEY für dialysiertes *Helix*-Blut bestimmte.
  3. Die Methoden von BARCROFT und VAN SLYKE zur Bestimmung des O<sub>2</sub>-Gehalts einer Blutprobe wurden so modifiziert, daß sie sich zur Untersuchung von Froschblut eigneten.
  4. Die Gaspipette nach JORDAN wurde abgeändert und auf Genauigkeit der O<sub>2</sub>-Bestimmung geprüft.
  5. Die O<sub>2</sub>-Dissoziationskurve von *Rana esculenta* wurde bestimmt. Sie verläuft bei 20° (also bei Sommertemperatur) ähnlich oder nur wenig steiler als die vom Menschenblut.
  6. Der Hämoglobingehalt vom Froschblut wurde mit Hilfe der Eisenbestimmungsmethode von SAN YIN WONG bestimmt. Er ist ebenso hoch wie der vom Menschenblut.
  7. Eine vorläufige Übersicht über die Sauerstoffverteilung im Froschkörper wurde mit Hilfe der früheren Untersuchungen anderer Autoren und der von mir gefundenen Daten gegeben.
  8. Einige Punkte der O<sub>2</sub>-Dissoziationskurve von *Planorbis corneus* wurden bestimmt. Die Kurven von Tieren verschiedener Herkunft scheinen sich außerordentlich stark voneinander zu unterscheiden. Auch der Hämoglobingehalt schwankt stark.
- Einige biologische Betrachtungen über den O<sub>2</sub>-Transport im Schneckenkörper wurden angestellt.
- Alle Untersuchungen fanden bei 20°, also einer günstigen Sommertemperatur statt.

Herrn Professor H. J. JORDAN danke ich herzlich für sein reges Interesse und Herrn Professor A. SCHOORL für die Erlaubnis sein Kolorimeter zu benutzen.

### Literaturverzeichnis.

#### *Allgemeines.*

Barcroft, J.: The respiratory function of the blood. Cambridge Univ. Press. 1914. — Teil 2; Hämoglobin. Ebenda 1928. — Jordan, H. J.: Allgemeine vergleichende Physiologie, S. 175. Berlin; de Gruyter 1929. — Krogh, A.: The respiratory exchange in animals and man. Longmans, Green & Co. 1916. — Wolvekamp, H. P.: Über die Blutfarbstoffe niederer Tiere. Verh. dtsch. zool. Ges. 1931, 185.

#### *Helix.*

Begemann, H.: Over de ademhalingsfunctie van haemocyanine. Diss. Utrecht, im Auszug bei H. J. Jordan; Z. vergl. Physiol. 2, 381 (1925). — Hogben, L. F.: Some observations on the dissociation of haemocyanine by the colorimetric

method. Brit. J. exper. Biol. 3, 225 (1926). — **Hogben, L. F.** und **Pinhey, K. F.:** A comparison between the dissociation of the haemocyanins of *Helix* and Crustacea. Ebenda 4, 203 (1926). — **Keuffel, C. W.:** A direct reading spectrophotometer. J. optical. Soc. Amer. and Rev. Sci. Instruments 2, 403 (1925). — **Liebsch, W.:** Über die Atmung einiger Heliciden. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 46 (1928). — **Montgomery, H.:** The copper content and the minimal molecular weight of the haemocyanins of *Busycon canaliculatum* and of *Loligo Pealei*. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole 58, 18 (1930). — **Pantin, C. F. A.** a. **Hogben, L. F.:** A colorimetric method for studying the dissociation of oxyhaemocyanin suitable for class work. J. Mar. biol. Assoc. U. Kingd. 13, 970 (1925). — **Redfield, A. C.** a. **Hurd, A. L.:** The respiratory function of the haemocyanins. Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A. 11, 152 (1925). — **Redfield, A. C., Coolidge, F.** a. **Hurd, A.:** The transport of oxygen and carbon dioxide by some bloods containing haemocyanin. J. of biol. Chem. 69, 475 (1926). — **Redfield, A. C., Coolidge, F.** a. **Montgomery, H.:** The respiratory proteins of the blood. II. The combining ratio of oxygen and copper in some blood containing haemocyanin. Ebenda 76, 197 (1928). — **Redfield, A. C., Coolidge, F.** a. **Shotts, M.:** The respiratory proteins of the blood. I. The copper content and the minimal molecular weight of the haemocyanin of *Limulus polyphemus*. Ebenda 76, 185. — **Redfield, A. C.:** The absorption spectra of some bloods and solutions containing haemocyanin. Biol. Bull. Mar. biol. Labor. Wood's Hole 58, 150 (1930). The equilibrium of oxygen with the haemocyanin of *Limulus polyphemus* determined by a spectrophotometric method. Ebenda 58, 238 (1930). — **Southworth, F. C. Jr.** a. **Redfield, A. C.:** The transport of gas by the blood of the turtle. J. gen. Physiol. 4, 387 (1926). — **Stedman, E. C.** a. **Stedman, E.:** Haemocyanin. I. The dissociation curves of the oxyhaemocyanin in the blood of some decapod crustacea. Biochemic. J. 19, 544 (1925). — The oxygen dissociation curve of the haemocyanin from the edible snail (*Helix pomatia*). Abstr. of comm. to the XIIIth Intern. Physiol. Congress 1929, S. 258. — **Ysseling, M. A.:** Über die Atmung der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*). Z. vergl. Physiol. 13, 1 (1930).

#### *Rana* und *Planorbis*.

**Bastert, Chr.:** Über die Regulierung des Sauerstoffverbrauches aus der Lunge der Frösche, im Hinblick auf ihr Tauchvermögen. Z. vergl. Physiol. 9, 212 (1929). — **Barcroft, J.** a. **Burn, J. H.:** J. of Physiol. 44, 493 (1913). — **Campbell, J. Argyll:** The normal CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub>-tension in the tissues of various animals. Ebenda 61, 248 (1926). — Changes in the tensions of CO<sub>2</sub> and O<sub>2</sub> in gases injected under the skin and into the abdominal cavity. Ebenda 59, 1 (1924). — **Dolk, H. E.** u. **Postma, N.:** Über die Haut- und die Lungenatmung von *Rana temporaria*. Z. vergl. Physiol. 5, 417 (1927). — **Dolk, H. E.** u. **van Veen, A. A.:** Über die Bildung von Sauerstoff aus Kohlendioxyd durch Eiweiß-Chlorophyllösungen. Biochem. Z. 185, 165 (1927). — **Dolk, H. E.** u. **v. d. Paauw, F.:** Die Leistungen des Hämoglobins beim Regenwurm. Z. vergl. Physiol. 10, 324 (1929). — **Fournier, C.** u. **Bunschoten, G.:** Ergebnisse in: JORDAN, Tiere mit „inkonstanter Lungengasspannung“ (siehe weiter unten). — **Gaarder, T.:** Über den Einfluß des Sauerstoffdruckes auf den Stoffwechsel. I und II. Biochem. Z. 89, 48, 94 (1918). — **Hazelhoff, E.:** Ergebnisse in: JORDAN, Über Tiere mit inkonstanter alveolärer Gasspannung. Bijdr. Dierkde, Afl. 22, 1922, S. 125. — **Henriques, O. M.:** Über Carhämoglobin. Erg. Physiol. 28, 625 (1929). — Die Bindungsweise des Kohlendioxyds im Blute. I—V. Biochem. Z. 200, 1 (1928). — **Ihle, J. E. W., v. Kampen, P. N., Nierstrass, H. F.** u. **Versluys, J.:** Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere, S. 667. Berlin: Julius Springer 1929. — **Jordan, H. J.:** Tiere mit „inkonstanter Lungengasspannung“ und die Bedeutung limitierender Faktoren. Naturwiss. 18,

- 607 (1930). — Le réglage de la consommation de l'oxygène chez les animaux à tension gazeuse alvéolaire inconstante. Arch. néerl. Physiol. 15, 2ième Livr., 198 (1930). — **Krogh, A.:** The composition of the atmosphere. Kgl. Danske Vidensk. selskab. fysiske Meddelelser 1, 12, 3 (1919). — On the cutaneous and pulmonary respiration of the frog. Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Lpz.) 15, 328 (1904). — **Krogh, A. a. Leitch, J.:** The respiratory function of the blood in fishes. J. of Physiol. 52, 288 (1919). — **Leitch, J.:** The function of haemoglobin in Invertebrates with special reference to *Planorbis* and *Chironomus* larvae. Ebenda 50, 85 (1916). — **Lintzell u. Radeff:** Über die Hämatinbildung aus CO-Hämoglobin und Oxyhämoglobin durch verdünnte Säuren. Biochem. Z. 203, 212 (1928). — **Mačela, J. a. Seliskar, A.:** The influence of temperature on the equilibrium between oxygen and haemoglobin in various forms of life. J. of Physiol. 60, 428 (1925). — **Rona, P. u. Kleinmann, H.:** Praktikum der physiologischen Chemie. II. Blut. Harn. — **Verzár u. Väsárhelyi:** Der CO<sub>2</sub>-Gehalt des Kapillarblutes und seine Bestimmung. Biochem. Z. 151, 250 (1922). — **Wastl, H. u. Seliskar, A.:** Observations on the Combination of CO<sub>2</sub> in the blood of the bull frog (*Rana catesbiana*). J. of Physiol. 60, 264 (1925). — **Wong, S. Y.:** Colorimetric determination of iron and hemoglobin in blood. J. of biol. Chem. 55, 421 (1923). — **Wertheimer, R.:** Beiträge zur Benutzung des Barcroft'schen Differentialapparates. Biochem. Z. 106, 6 (1920).

# STELLINGEN

## I.

Bij de opname van  $O_2$  door de weefsels van *Helix* speelt  $CO_2$  geen rol van beteekenis als factor, die het afgeven van  $O_2$  door de Oxyhaemocyanine bevordert.

## II.

Het is niet waarschijnlijk dat het Bohr-effect voor *Rana* een biologische beteekenis heft.

## III.

Met recht beweert C. Stieler, dat *Dorygnathus* slechts bij steile kusten geleefd heeft (Naturw. Wochenschr. N. F. Bnd. 21. S. 273. 1922.)

## IV.

Het is niet gewenscht bij het definieeren van het coelombegrip, naast morphologische kenmerken, de z. g. oorspronkelijke functie als criterium te gebruiken.

## V.

Bij quantitative bepalingen van verschillende koolhydraten in plantendeelen mag de enzymwerking niet door verhitting uitgeschakeld worden.

## VI.

De mogelijkheid een ideale Blackman-kromme te verkrijgen bestaat slechts wanneer de temperatuurquotienten der reactiesnelheden der componenten van de onderzochte ketenreactie sterk verschillen.

## VII.

Prikkelgeleiding door een zenuw vindt met decrement plaats.

## VIII.

De opvatting van Krogh, dat in een ketenreactie in het organisme alleen de langzaamste reactie als „limiting factor“ kan optreden, is niet juist.

## IX.

Wetenschap heeft — wanneer men afziet van haar eventueele beteekenis voor de oeconomie der menschelijke samenleving — slechts cultureele waarde binnen het kader eener wereld-en levensbeschouwing.

## X.

Het is gewenscht, dat de tijd, besteed voor het onderwijs in Natuurlijke Historieop Gymnasia en Hoogere Burgerscholen, gehandhaafd blijft; opvoering van het aantal lesuren is niet in het belang der leerlingen.









