

KÖZLEMÉNY A TÜBINGENI EGYETEM PHYSIOLOGIAI CHEMIAI
INTÉZETÉBŐL.

Igazgató: HÜFNER Gusztáv tanár.

A methaemoglobin és nitrogenoxyd chemiai egyesülésének mennyileges viszonyairól.*

HÜFNER G. tanr.-tól és REINBOLD B. dr.-tól.

Egyikünk¹ Otto J.-vel végzett kísérletei során már több évvel ezelőtt észlelte, hogy a methaemoglobin barna színű vizes oldata tiszta nitrogenoxyd hatására azonnal pompás biborvörösre változik. Ez a reakció annál feltűnőbb volt, mert a methaemoglobin úgy az oxygeniummal, mint a szénoxyddal szemben teljesen közömbösen viselkedik. Későbbi vizsgálatokból² az tűnt ki, hogy a methaemoglobinnál ilyen módon képződő vegyület színeképe — ha az oldatok töménysége egyforma — teljesen egyezik a nitrogenoxyddal kezelt vizes szénoxydhaemoglobin-oldat színeképevel.

A két anyag chemiai egyesülésének mennyileges viszonyait azonban még eddig senki sem vizsgálta. Az elmúlt év folyamán abban a reményben foglalkoztunk ilyen irányú kísérletekkel, hogy ezek révén sikerül egy nagyjelentőségű kérdés megoldásához, t. i. a methaemoglobin chemiai szerkezetének felderítéséhez hozzájáruljunk.

* Az E. M. E. orvos-természettudományi szakosztályának 1904. évi decz. hó 17-én tartott orvosi szakülésén bemutatta UDRÁNSZKY LÁSZLÓ tanr.

¹ HÜFNER G. és OTTO J.: Zeitschrift für physiol. Chemie 1882 VII. k. 65 l.

² HÜFNER G. és KÉLZ R.: U. o. 1883 VII. k. 366 l.

A methaemoglobint, melyet kísérleteinkhez használtunk, részben több hónappal a kísérletek előtt sertés véreből állítottuk elő és a feldolgozásig jég között alkohol és víz keveréke alatt tartottuk. Miután az igen finom túalakú barna methaemoglobin-kristályokat centrifugálás útján teljes leülepedésre birtuk, a kristályos pépet vályúszerűleg kivájt likaesos kövekre öntöttük, melyek az anyalúg, illetőleg mosófolyadék legnagyobb részét magukba szívták, miközben a methaemoglobin bőrszerű tömeggé állott össze. Ezt vízben oldottuk, az oldatot megszürtük, az alkohol teljes eltávolítása céljából 2 napig lepárolt vízzel dialysáltuk és végül közvetlenül a tulajdonképeni kísérlet előtt teljesen gázmentessé tettük. Ezt úgy értük el, hogy oldatunkat alul és felül kivezető csővel és üvegcappal ellátott, megfelelő nagyságú, vastagfalú üveggömbbe öntöttük, itt tiszta hydrogeniummal összeráztuk, végül pedig a benne elnyelt gázokat jól működő szivattyú segítségével annyira kiszivattyúztuk, hogy a folyadék többé nem habzott és rázásra kalapács módjára ütődött az edény falához.

Az üveggömb alsó nyílása higanynyal töltött közlekedő csővel állott összeköttetésben. Ennek segítségével az oldat felszínét szükség szerint lehetett emelni vagy süllyeszteni. Ugyanezen berendezés szolgált arra is, hogy a már gázmentessé tett oldatból a szükséges mennyiséget a gömb felső nyílásán keresztül a gáz elnyeletésre használt üveggömbbe szorítsuk.

Későbbi kísérleteink során oldataink készítéséhez csupán lóvérből nyert methaemoglobint használtunk. Lóvérből előállított nagyobb oxyhaemoglobinkészletünk ugyanis néhány hónap alatt száraz edényekben teljesen methaemoglobinná alakult át.

Gázmentes oldataink methaemoglobintartalmát minden alkalommal a gázelnyeletési kísérlet befejezése után spectrophotometria útján határoztuk meg.

A nitrogeniumoxydot EMICH F.¹ eljárása szerint állítottuk elő. Ha t. i. $\frac{1}{4}$ —1 literes ERLLENMEYER-lombikba tömény kénsavat öntünk, 2 súly-százaléknyi salétromossavas natriumot és annyi

¹ Sitzungsberichte der k. k. Akad. in Wien, II. oszt. CI. kötet IIb. 88 lap. (1892).

higanyt adunk hozzá, hogy ez utóbbi az edény fenekét épen ellepje, lassú, egyenletes áramban igen tiszta nitrogenoxyd fejlődik, melyet felfoghatunk, ha a lombikot jól záró dugóval, melybe előbb gázvezető csövet és csepegtető tölcéért illesztettünk, bedugjuk. A gázból minden alkalommal több liternyi mennyiséget gyűjtöttünk higany fölött, EHRENBERG-féle gasometerben.

A tulajdonképeni gázelnyelési kísérleteket ugyanazon eszközökkel végeztük, melyek a tübingeni physiologiai-chemiai intézetben hasonló czélra már évek óta használatban vannak.¹

Kísérleti adataink értékesítése rendén ebben az esetben is

$$v = a + bp$$

egyenletet kellett számításaink alapjául és feltételül tekintnünk. Ez az egyenlet fejezi ki, t. i. azon felvételünket, hogy az összes gázmennyiség, melyet methaemoglobinoldatunk elnyel, két részből áll. Ezek egyike a physikailag elnyelt gáztérfogat (b), mely egyenesen függ a nyomástól, másika a chemiailag megkötött gázmennyiség (a), mely a nyomástól független.

Első sorban azon kísérletek eredményeit soroljuk föl, melyeket egyikünk csupán előzetes tájékozódás czéljából egymaga végzett.

Kísérletsorozat 1903 aug. 5.-én.²

Sertésmethaemoglobin. Közép hőmérséklet a kísérletnél: 21,8° C.

<i>p.</i>	<i>v.</i>	<i>v.</i>
627,1 m/m	17,66	17,70
605,8 "	17,62	17,59
579,0 "	17,51	17,45
549,4 "	17,20	17,29
532,4 "	17,24	17,20

¹ HÜFNER G. Neue Versuche zur Bestimmung der Sauerstoffcapacität des Blutfarbstoffs. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol-Abt. 1894. 158 l.

² Úgy ebben a táblázatban, valamint a később következőkben *p* azon nyomást fejezi ki higanymilliméterekben, mely alatt a kísérletet végeztük;

Ezek alapján r' értékét a következő egyenlet fejezi ki.

$$r' = 14,375 + 0,0053077 p.$$

Mint ahogy pedig a kísérlethez használt methaemoglobin mennyisége 4 photometricus meghatározás középértéke szerint 5,32 gr. volt, 1 gr. methaemoglobin

$$\frac{14,375}{5,32} = 2,70 = 2 \times 1,35 \text{ cm}^3$$

nitrogenoxydot kötött meg.

Ebből az előzetes kísérletből tehát két dolog tűnt ki: 1. A methaemoglobin, mely különben igen közömbös chemiai viselkedésével tűnik ki, a nitrogenoxyddal határozott mennyiségi viszonyok szerint egyesül. 2. 1 gr. methaemoglobin valószínűleg éppen kétszer akkora térfogatú nitrogenoxydot köt meg, mint a mennyi oxygeniumot, vagy szénoxydot 1 gr. haemoglobin igényel.

A következő kísérletek teljes mértékben igazolták ennek az első kísérletsorozatnak credményeit.

Azt lehetett észlelni, hogy ha kísérleteinkben az elnyelt gáz térfogatának növelése, illetőleg az észlelési hiba csökkentése czéljából, töményebb methaemoglobinoldatokat alkalmaztunk, akkor egyfelől a gázfelvétel — kivált a kísérletek vége felé — lassabban és nehezebben ment végbe, másfelől pedig úgy látszott, hogy a $v = a + bp$ egyenlet b állandója teljesen elesett, vagyis az elnyelt gázmennyiség a nyomástól teljesen függetlenné mutatkozott. Szolgáljon erre példa gyanánt 1904 febr. 17-i kísérletsorozatunk, melyet az előbbi sorozathoz hasonlóan szintén

v -vel jelöltük a p nyomásnál elnyelt gáz 0°-ra és 760 mm. higany nyomásra visszaszámított mennyiségét. Ebből a két adatból:

$$a = \frac{\sum p \cdot \sum pv - \sum v \sum p^2}{(\sum p)^2 - n \sum p^2} \text{ és } b = \frac{\sum p \cdot \sum v - n \sum pv}{(\sum p)^2 - n \sum p^2}$$

képletek segítségével (melyekben n a számításba vont kísérletek számát jelenti) kiszámítottuk a és b nagyságát középértékekben. Ezen adatok segítségével pedig a különböző nyomás mellett elnyelt gázmennyiségek javított értékeihez jutottunk, melyeket v' rovatban foglaltunk össze.

sertésmethaemoglobinnal 20,6° C. hőmérsék mellett végeztünk. Az alkalmazott methaemoglobin mennyisége 11,47 gr. volt.

p	v
641,1	30,56
622,1	30,62
601,7	30,72
582,9	30,64
566,2	30,60

Látjuk, hogy v értékei nem változtak a nyomással párhuzamosan, úgy hogy jogosítva vagyunk 30,63-t v -nek nyomástól független középértéke gyanánt tekinteni, $\frac{30,63}{11,47}$ azonban $= 2,67 = 2 \times 1,335$, vagyis a gázmennyiség, mit 1 gr. methaemoglobin megkötött, 1,34-nek itt is megközelítőleg kétszerese volt.

Igyekeznünk kellett tehát, hogy elkerüljük azokat a nehézségeket, melyek oldataink túlságos töménységéből származtak, de e mellett az elnyelt gázmennyiséget lehetőleg magas értéken tartsuk. Ebből a célból olyan eszközt készítettünk, melynek a folyadék felvételére szánt gömbje körülbelül kétszer akkora volt, mint a régi golyóskészüléké. Ennek megfelelően további kísérleteinket most már 409,94 cm.³ vérfestékkoldattal végeztük, míg régi készülékünk folyadéktartó gömbje csak 205,7 cm.³ térfogatú volt.

Azt lehetett várniuk, hogy a hígabb methaemoglobinoldatok rázásra kevésbé fognak habzani, a golyós készüléknek a manometerrel összekötése után a nyomáskülönbség gyorsabban és biztosabban fog kiegyenlítődni és hogy a physikailag elnyelt gáztérfogat növekvése révén ezt nagyobb pontossággal határozhatjuk meg.

A következő két kísérletsorozat, melyet lóvérből nyert methaemoglobin híg oldataival a nagyobb golyós készülék alkalmazása mellett végeztünk, teljesen megfelelt várakozásunknak.

Kísérletsorozat 1904. június 17-én.

$$t^* = 22.2 \text{ } ^\circ\text{C.}$$

$h_m^{**} = 7.5 \text{ gr.}$ (4 különböző fokban hígított oldattal végzett 8 meghatározás középértéke.)

p	v	v'
635,5	30,64	30,65
613,9	30,21	30,29
592,1	30,06	29,92
572,3	29,51	29,59
555,0	29,28	29,29

Ezek alapján

$$v' = 19.94 + 0.016856 p.$$

A nitrogenoxyd physikai absorptio-hányadosa pedig az alkalmazott oldatra vonatkozólag

$$\alpha_t = \frac{0,016856 \times 760}{409,94} = 0,03124$$

Az 1 gr. methaemoglobin által igényelt gázmennyiség:

$$\frac{a}{h_m} = \frac{19,94}{7,5} = 2,66 = 2 \times 1,33$$

Kísérletsorozat 1904. május 23-án.

$$t = 20,25 \text{ } ^\circ\text{C.}$$

$h_m = 6,45 \text{ gr.}$ (4 különböző fokban hígított oldattal végzett 4 meghatározás középértéke.)

p	v	v'
642,6	27,77	27,84
621,7	27,61	27,50
598,8	27,11	27,17
576,6	26,84	26,77
555,2	26,39	26,43

* t = a kísérlet alatt uralkodó középhőmérséklet.

** h_m = a kísérletben alkalmazott, methaemoglobin spectrophotometria útján meghatározott mennyisége.

Ezek szerint

$$v' = 17,51 + 0.016072 p.$$

$$\alpha_t = \frac{0,016072 \times 760}{409,94} = 0,02980$$

$$\frac{a}{h_m} = \frac{17,51}{6,45} = 2,71 = 2 \times 1,355$$

Ezen 4 kísérletsorozat eredményének középértéke szerint tehát 1 gr. methaemoglobin

$$\frac{2,70 + 2,67 + 2,66 + 2,71}{4} = 2,685 = 2 \times 1,342 \text{ cm.}^3$$

nitrogenoxyddal egyesül.

Egyelőre semmi alapunk sincs arra, hogy leletünket a methaemoglobin szerkezetére vonatkozólag valamely irányban biztossággal értékesíthessük. Kétségtelen tény gyanánt kell azonban hangsúlyoznunk azt, hogy az 1 gr. methaemoglobinnal egyesülő nitrogenoxyd-mennyiségnek térfogata csaknem teljes pontossággal kétszerese azon szénoxyd-mennyiség térfogatának, mely korábbi vizsgálatok szerint 1 gr. haemoglobinnal lép összeköttetésbe.