

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. med. WILH. HALLERMANN).

Eine einfache approximative quantitative Kohlenoxydbestimmung im Blut.

Von

WILHELM MARQUARDT.

Mit 2 Textabbildungen.

Seit den grundlegenden Arbeiten über die Veränderungen des Blutes durch Kohlenoxyd von CLAUDE BERNARD, HOPPE-SEYLER, LOTHAR MEYER u. a. sind fast unzählige Proben zur qualitativen Untersuchung des Blutes auf Anwesenheit von Kohlenoxyd gefunden worden. Diese Proben sind alle außerordentlich einfach und ohne besondere chemische und physikalische Kenntnisse durchzuführen.

Anders verhält es sich mit dem quantitativen Nachweis des Kohlenoxyds im Blut. Alle bisher angegebenen Proben sind sehr zeitraubend oder setzen kostspielige Apparate voraus. Außerdem können sie nur von erfahrenen und geübten Analytikern ausgeführt werden.

Da jedoch häufig die quantitative CO-Bestimmung von Wichtigkeit ist, erschien es notwendig, eine Methode auszuarbeiten, die vor allen Dingen leicht, schnell und ohne kostspielige Apparate eine annähernd genaue CO-Bestimmung im Blut zuläßt.

Bei der Überprüfung aller mir zugänglichen Methoden schieden die gasanalytischen, kolorimetrischen und spektrophotometrischen Methoden von vornherein aus, so daß nur noch die quantitativen chemischen CO-Analysen übrigblieben. Ich hielt die von verschiedenen Autoren (FODOR, EULENBERG, WENNESLAND) beschriebene Möglichkeit, aus dem Kohlenoxydhämoglobin das Kohlenoxyd für Nachweis und Mengenbestimmung auszutreiben, um es dann reaktiv erkennen zu können, als Ausgangspunkt meiner Versuche am geeignetsten. Von den genannten Autoren wurde eine Palladiumchlorürlösung benutzt, in der durch das Gas schwarzes metallisches Palladium abgeschieden wird ($\text{CO} + \text{PdCl}_2 + \text{H}_2\text{O} = \text{Pd} + \text{CO}_2 + 2 \text{HCl}$). Die auf dieser Grundlage bisher ausgearbeiteten Methoden sind sehr umständlich und erfordern besonders große Vorsicht, da bei der einen Methode unter anderen Schwierigkeiten auch die besteht, daß ein Teil des aus dem Blut durch einen Luftstrom ausgetriebenen Kohlenoxyds mit den Luftblasen durch die Palladiumchlorürlösung hindurchtritt und verlorengeht. Auch die bei LEWIN² angegebene Methode durch Sammeln, Glühen und Wiegen des in den Kölbchen abgeschiedenen Palladiums die Menge des Kohlenoxyds zu berechnen, ist zeitraubend und umständlich. Die Titration der reduzierten Palladiumchlorürlösung erfordert ebenfalls Geschick und Erfahrung. Das von WENNESLAND¹⁰ in neuerer Zeit ausgearbeitete Verfahren benötigt etwa 5—6 Std zur vollständigen Reduktion der Palladiumchlorürlösung. Die Fehlergrenze soll bei $\pm 0,017$ Vol.-% (mit 1 cm³ Blut) liegen.

Aus diesen Darlegungen geht hervor, daß das abgeschiedene Palladium der vorhandenen CO-Menge proportional ist. Die Menge des Palladiums, welche 1 cm³ Kohlenoxyd entspricht, läßt sich demnach feststellen:

$$\begin{aligned} \text{also } \text{Pd} : \text{CO} &= 1 : x \text{ oder} \\ 106 : 28 &= 1 : x \\ x &= 0,2641 \end{aligned}$$

d. h.: 0,2641 mg Kohlenoxyd reduzieren 1 mg Palladium oder da 1 cm³ Kohlenoxyd 1,2507 mg wiegt

$$\begin{aligned} 0,2641 : 1,2507 &= 1 : x \\ x &= 4,735. \end{aligned}$$

Demnach entspricht 1 cm³ Kohlenoxyd 4,735 mg Palladium.

Es ist nun möglich, bei entsprechender Versuchsanordnung die Menge des abgeschiedenen Palladiums nicht nur gravimetrisch, sondern auch photometrisch zu bestimmen. Hierdurch wird eine sehr wesentliche Erleichterung in der Durchführung der Methode erzielt. Auch gegenüber dem Verfahren von LENGGENHAGER und LOTTENBACH besteht eine beträchtliche Vereinfachung, denn es müssen dort eine Anzahl Faktoren berücksichtigt werden, da die Absorption von sichtbarem Licht in einer Hämoglobinlösung von der Wellenlänge des Lichtes, der Dicke der durchstrahlten Schicht und der Konzentration des Hämoglobins abhängig ist, so daß in jedem Fall die Gültigkeit des LAMBERT-BEERSchen Gesetzes gewährleistet sein muß.

Bei der photometrischen Bestimmung des abgeschiedenen Palladiums, welches bei unserer Methode in Form eines Spiegels von molekularer Schichtdicke auf der PdCl₂-Lösung schwimmt, können diese Faktoren unberücksichtigt bleiben, da die Voraussetzungen völlig andere sind. Infolge einer mehr oder weniger starken Reflexion und Absorption des auf den Pd-Spiegel fallenden Lichtes kommt es zu einer entsprechenden Abschwächung des hindurchtretenden Lichtes, die dann mit Hilfe des Photostromes gemessen werden kann.

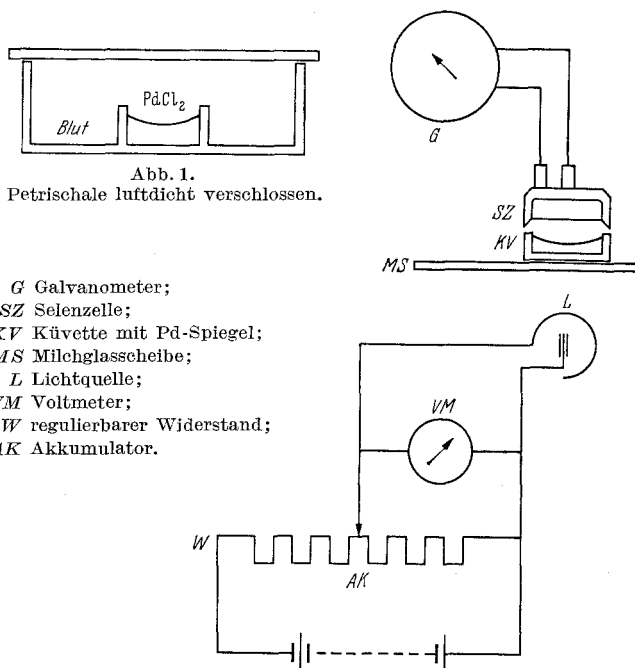
Prinzip der Methode.

CO wird in einer luftdichten Kammer aus dem Blut herausgetrieben und reduziert dort einen Teil der in einer Küvette befindlichen PdCl₂-Lösung zu metallischem Palladium. Das metallische Palladium schwimmt als dünner Spiegel auf der Oberfläche der Lösung. Die durch die Reflexion und Absorption bedingte Lichtabschwächung an der Unterseite dieses Spiegels wird mit Hilfe eines Photoelementes gemessen. Sie ist der CO-Menge proportional und kann nach Eichung des Meßinstrumentes direkt in Prozenten abgelesen werden.

Methodik.

Um ein möglichst schnelles und vollständiges Austreiben des CO aus dem Blut zu gewährleisten war es nötig, das Blut über eine größtmögliche Oberfläche zu ver-

teilen (WENNESLAND läßt bei der Austreibung des CO zwei hermetisch miteinander verbundene Erlenmeyerkolben — wovon der eine das Blut, der andere die PdCl_2 -Lösung enthält — 4 Std lang rotieren). Zu diesem Zweck wurden von mir Petrischalen mit einem Durchmesser von etwa 70 mm benutzt, in deren Mitte ein Glasring von 20 mm lichter Weite gesetzt wurde (Abb. 1). Er dient zur Aufnahme von 1 cm³ n/100 PdCl_2 -Lösung und soll immer die gleiche Weite besitzen. In die Petrischale wird eine vorher festgesetzte Menge Blut, welches zur Erzielung einer größeren Oberfläche mit Aqua dest. verdünnt wird, dem zu einer schnelleren Austreibung des Kohlenoxyds einige Tropfen einer 10%igen H_2SO_4 -Lösung zugesetzt



werden, eingefüllt. Der Rand der Petrischale wurde abgeschliffen und mit einer gut eingefetteten Glasplatte luftdicht verschlossen. Die maximale Spiegelbildung ist bei einer Blutmenge von 0,1 cm³ in etwa 30 min erreicht. Sie ist bei geeigneter Versuchsanordnung leicht unter der Photozelle zu prüfen. Als Lichtquelle ist am zweckmäßigsten ein Akkumulator zu verwenden, der eine 6 V-Birne speist. Die Helligkeit ist durch einen Widerstand zu regulieren und kann direkt auf dem mit der Photozelle verbundenen Galvanometer abgelesen werden. Das Licht fällt durch eine Milchglasscheibe in das fixierte Photoelement (Typ Lange S 28) (Abb. 2). Es ist erforderlich, daß die Lichtabsorption der leeren Küvetten vor dem 1. Versuch festgelegt wird, damit eventuell vorhandene Unterschiede der einzelnen Küvetten bei der Untersuchung berücksichtigt werden können.

Alle hierzu benötigten Materialien sind heute ohne Schwierigkeiten zu erhalten und bereiten keine erheblichen Unkosten. Die Herrichtung der zur Aufnahme des Blutes und der Palladiumchloridlösung dienenden Petrischalen wurde bereits oben beschrieben. Die die PdCl_2 -Lösung enthaltenden Gefäße sind Objektträger

mit aufgebrannten Ringen von 20 mm lichter Weite, die durch die Firma Schweder, Kiel, geliefert wurden. Lediglich das Photoelement (Typ Lange S 28) erfordert einen etwas größeren Kostenaufwand. Als Meßinstrument wurde ein vorhandener Voltmeter (20 V) verwandt, dessen Vorwiderstand kurzgeschlossen wurde, um dadurch eine maximale Empfindlichkeit zu erzielen. Da das Instrument mit bekannten Kohlenoxydkonzentrationen des Blutes geeicht wurde, konnte auf die Feststellung des durch den Kurzschluß des Vorwiderstandes erheblich veränderten Meßbereiches verzichtet werden.

Zur Eichung wurden Kohlenoxydblutkonzentrationen von 10–100%iger Sättigung im Abstände von je 10% hergestellt. Das durch Erhitzen von Ammoniumoxalat mit konzentrierter Schwefelsäure entbundene Kohlenoxyd wurde kurze Zeit in Citratblut eingeleitet. Infolge der starken Affinität des Kohlenoxyds zu Hämoglobin kommt es schnell zu einer maximalen Sättigung des Blutes. Das bei dieser Herstellung in dem gleichen Volumen entwickelte Kohlendioxyd hat keine praktische Bedeutung, da es physikalisch nur zum geringsten Teil vom Blut absorbiert wird und in diesem Fall die Affinität des Kohlenoxyds zum Hämoglobin eine weitaus stärkere ist. Der maximale Sättigungswert konnte mit Hilfe der oben beschriebenen Methode festgestellt werden und war bei Einleiten von reinem Kohlenoxyd innerhalb einer sehr kurzen Zeit erreicht.

Nach sorgfältiger Herstellung der zum Eichen des Meßinstrumentes erforderlichen Blutkonzentrationen war es nötig, die für dieses Verfahren am günstigsten liegende Blutmenge zu ermitteln. Ich fand, daß bei meiner Versuchsanordnung Blutmengen von 0,5 cm³ zu groß waren, da diese namentlich in hohen CO-Konzentrationen bei dem von mir verwandten Meßinstrument sehr nahe beieinanderliegende Ausschläge ergaben, wodurch eine Erhöhung der Fehlergrenze bedingt war. Nach zahlreichen Versuchen konnte die am besten geeignete Blutmenge mit 0,1 cm³ festgelegt werden. Ich habe, bevor ich die endgültige Eichung durchführte, den Hämoglobingehalt des hierzu verwandten Blutes festgestellt. Er betrug nach SAHLI 85%. Die Umrechnung der bei 85% gefundenen Werte auf 100% Hämoglobin bereitet keine Schwierigkeiten.

Durchführung der Bestimmung.

Beim Vorbereiten der Reaktionsgefäße hat sich folgende Arbeitsweise, die auch die genauesten Resultate ergab, am besten bewährt: In die 6 vorhandenen Petrischalen werden die Küvetten (Objektträger mit aufgebranntem Glasring, deren lichte Weite gleich sein muß), etwas erhöht auf einem zum Dreieck gebogenen schmalen Metallstreifen gesetzt, um eine Berührung des Objektträgers mit dem Gefäßboden zu vermeiden, da sich sonst in dem noch vorhandenen schmalen Zwischenraum Blut ansammeln würde, welches sich hierdurch der Bestimmung entzieht. Nachdem der Rand der Schale eingefettet ist, werden in jedes Gefäß 1 cm³ Aqua dest. gegeben und 5 Tropfen einer 10%igen H₂SO₄-Lösung zugesetzt. Darauf füllt man die Küvette mit 1 cm³ einer n/100 PdCl₂-Lösung (0,8881 g PdCl₂ p. a. [Merk] lösen in 100 cm³ n/10 kochender Salzsäure. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur Lösung mit Aqua dest. auf 1 Liter auffüllen. In einer Flasche mit Glasstopfen aufbewahrt, ist die Lösung sehr lange haltbar). Da der Extinktionswert der PdCl₂-Lösung in sämtlichen von mir

benutzten Küvetten konstant ist, wurde er bei der Eichung des Meßinstrumentes nicht berücksichtigt. Nachdem die Gefäße soweit vorbereitet sind, wird in jedes an einer von Aqua dest. noch unbenetzten Stelle $0,1 \text{ cm}^3$ der bekannten frisch hergestellten Kohlen Kohlenoxydhämoglobinlösung* hineingegeben und mit einer gut passenden Glasplatte sofort luftdicht verschlossen. Anschließend wird jede Schale sorgfältig einige Male geschwenkt, um eine möglichst gute Vermischung des Blutes mit dem Wasser herbeizuführen. Je besser die Verteilung des Blutes im Wasser ist, um so schneller und vollständiger kann das CO herausdiffundieren. — Wenn bei der Vorbereitung der Petrischalen diese Reihenfolge innegehalten wird, kann ein Teil der möglichen Fehlerquellen ausgeschaltet werden. — Nach etwa 30 min ist das Maximum der Spiegelbildung erreicht. (Bei einem Reaktionsgefäß, wie es auf der Abbildung dargestellt ist, könnte man im verschlossenen Zustand unter der Photozelle ständig den Fortgang der Reduktion bis zur maximalen Spiegelbildung kontrollieren.) Die Glasplatten werden vorsichtig abgenommen, damit es zu keiner Zerstörung des dünnen, meist zusammenhängenden Palladiumhäutchens kommt. Jetzt kann die abgeschiedene Palladiummenge mit Hilfe des Photostromes festgestellt werden. Nach einiger Übung erzielt man recht bald gute Ergebnisse.

Ich habe, nachdem ich zuerst die Zeitdauer bis zur maximalen Spiegelbildung und die für meine Apparatur günstigste Blutmenge feststellte, bei der Eichung des Meßinstrumentes immer einheitlichere Werte erhalten, die allerdings bei meinem nicht sehr empfindlichen Instrument dicht beieinander liegen. Die Streuungen nach unten und oben innerhalb einer Versuchsreihe bei gleichem CO-Gehalt waren, falls sich keine größeren Fehler bei der Vorbereitung der Gefäße einschlichen, schließlich nicht größer als 2 Maßeinheiten. (Die Skala meines Instrumentes hat eine Einteilung von 0—20, mit Unterteilung von —,5.) Der besseren Übersicht halber habe ich die Meßwerte jeder Untersuchung mit 10 multipliziert.

Das Ergebnis der von mir aufgestellten Reihe bei abfallenden Konzentrationen von 100—10% Kohlenoxyd im Blut nach vorhergehender Einstellung des Meßinstrumentes auf 200, war folgendes:

Konzentration des CO-Blutes in %	Stromabfall durch den ab- geschiedenen Palladium- spiegel	Konzentration des CO-Blutes in %	Stromabfall durch den ab- geschiedenen Palladium- spiegel
100	36	50	77
90	42	40	85
80	48	30	109
70	54	20	116
60	61	10	135

* Mein in einem 100 cm^3 großen verschlossenen Kolben aufbewahrtes, gesättigtes Kohlenoxydblut verlor innerhalb 24 Std etwa 10% an CO.

Diese ermittelten Werte konnten in zahlreichen Versuchen — die gleichen Bedingungen wie oben vorausgesetzt — bestätigt werden. Ihre Streuung war etwa ± 2 .

Es ist selbstverständlich, daß besondere Sorgfalt auf die Herstellung der Eichlösung gelegt werden muß, da sich die hier gemachten Fehler auch bei der Strommessung bemerkbar machen und so zu falschen Ergebnissen bei der Bestimmung der CO-Konzentration in unbekannten Lösungen führen.

Der Vergleich der gefundenen Werte zeigt, daß mit Hilfe dieser Methode der CO-Gehalt des Blutes mit einer Fehlergrenze von weniger als 10% festgestellt werden kann.

Da diese Methode außerordentlich empfindlich ist, lassen sich mit ihr auch Kohlenoxydmengen unter 10% nachweisen. Falls ein derartig geringer CO-Gehalt vermutet wird, muß zur Bestimmung die 10fache Blutmenge genommen werden. Die Umrechnung macht keine Schwierigkeiten.

Eine Mengenbestimmung des Kohlenoxyds, die von dem Vergleich mit einer Eichlösung unabhängig ist, könnte dann durchgeführt werden, wenn man die abgeschiedene Gewichtsmenge des Palladiums photometrisch ermittelt und aus ihr die zur Reduktion erforderliche CO-Menge errechnet, die dann weiter mit der gewogenen Blutmenge in Beziehung gesetzt werden kann.

Zum Schluß soll zu den Bedenken mancher Autoren Stellung genommen werden, die die Bestimmung des Kohlenoxyds mittels Palladiumchlorürlösung wegen ihrer übergroßen Empfindlichkeit gerade für die Anwendung in der forensischen Medizin ablehnen, mit der Begründung, daß schon die Laboratoriumsluft die Resultate wesentlich beeinflussen kann. Dieses mag wohl bei den bisher angegebenen und hier kurz erwähnten Verfahren der Fall sein, trifft aber für die jetzt beschriebene Methode nicht zu, da vollkommen andere Voraussetzungen vorliegen. Die sehr kleine Oberfläche der PdCl_2 -Lösung, die nur ganz kurze Zeit mit der Laboratoriumsluft in Berührung kommt, kann nicht eine derartige Menge Kohlenoxyd aufnehmen, die die Versuche in der beschriebenen Form beeinflussen könnte. So wurde beispielsweise selbst bei der die PdCl_2 -Lösung enthaltenden Vorratsflasche trotz sehr häufigen Öffnens keine erkennbare Spiegelbildung wahrgenommen. Damit entfallen für die hier beschriebene Methode diese Bedenken.

Zusammenfassung.

Eine kurze Gegenüberstellung der qualitativen und quantitativen Kohlenoxydbestimmungsmethoden des Blutes zeigt, daß im Gegensatz zu den qualitativen Bestimmungen die quantitativen weitaus schwieriger sind bzw. kostspielige Instrumente erfordern. Es ist deshalb eine ein-

fache, annähernd genaue quantitative Methode ausgearbeitet worden, die dazu beitragen soll, die durch die zeitbedingten Verhältnisse in dieser Hinsicht bestehenden Schwierigkeiten an vielen Instituten zu beheben.

Ihr Prinzip beruht auf der photoelektrischen Messung des durch Kohlenoxyd aus einer Palladiumchlorürlösung reduzierten Palladiums, welches der Kohlenoxydmenge direkt proportional ist. Durch Eichung mit bekannten CO-Blutkonzentrationen kann eine unbekannte Kohlenoxydmenge im Blut in Prozenten abgelesen werden. Die Fehlergrenze dieser Methode liegt bei weniger als 10%.

Literatur.

- ¹ HENKE, F., u. O. LUBARSCH: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie, Bd. 10. Vergiftungen. Berlin: Springer 1930. — ² LEWIN, L.: Die Kohlenoxydvergiftung. Berlin: Springer 1931. — ³ LENGGENHAGER, K., u. K. LOTTENBACH: Schweiz. med. Wschr. **1948**, 370. — ⁴ FLURY, F., u. F. ZERNIK: Schädliche Gase. Berlin: Springer 1931. — ⁵ SCHMIDT, O.: Z. klin. Med. **136**, 151 (1939). — ⁶ SCHMIDT, O.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **27**, 219 (1936). — ⁷ SCHMIDT, O.: Klin. Wschr. **1939**, 938. — ⁸ SCHMIDT, O.: Z. klin. Med. **136**, 151 (1939). — ⁹ WAGNER, K.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. **35**, 79 (1942). — ¹⁰ WENNESLAND, R.: Acta physiol. scand. (Stockh.) **1**, 49 (1940); **2**, 198 (1941); **5**, 76 (1943). — ¹¹ MURALT, A. v.: Praktische Physiologie, 2. Aufl. Berlin: Springer 1944. — ¹² REUTER-LIEB-WEYRICH: Gifte und Vergiftungen in der gerichtl. Medizin. Berlin u. Wien: 1938. — ¹³ HAVEMANN, R.: Klin. Wschr. **1940**, 1183.

Dr. WILHELM MARQUARDT, (24b) Kiel,
Institut für gerichtl. und soziale Medizin der Universität.
