LUSCINIA 47 | Heft 1/2 | Seite 5 - 10 | Frankfurt/M 1991

# Stoffwechselmessungen mit der HALDANE-Apparatur

von ROLAND PRINZINGER

Einer der ersten Wissenschaftler, der am Zoologischen Institut der Universität Frankfurt/Main intensive Untersuchungen zum Energiehaushalt und zur Körpertemperatur bei Vögeln durchgeführt hat, war Prof. Dr. Friedrich (Fritz) Merkel, der Vorgänger von Prof. Wolfgang Wiltschko. Er kann in diesem Jahre seinen 80. Geburtstag feiern.

Prof. Merkel ist vor allem durch seine grundlegenden Erkenntnissen zum Magnetkompaß und zur Orientierung der Vögel im allgemeinen bekannt geworden. Daneben hat er umfangreiche Experimente zum Problem der Zugunruhe durchgeführt. Diese Fragestellung ging er unter anderem mit der Bestimmung von Umsatzraten und der Körpertemperatur von Zugvögeln unter circannualen Bedingungen an. Zahlreiche Arbeiten zeigen schon jahresperiodische Änderungen der Körpertemperatur und des Energiehaushaltes und deren Beeinflussung durch verschiedene äußere und innere (z.B. Hormone) Parameter. Sie sind somit richtungsweisend geworden und noch heute hochaktuell.

Den Umsatz bestimmte Prof. Merkel mit einer sogenannten HALDANE-Apparatur. Diese Apparatur erlaubt die Ermittlung der $CO_2$- und $O_2$-Konzentration in einer Luftprobe auf chemischen Wege in einem zeitraubenden Verfahren (siehe Gerät unten und die dazugehörige Originalbeschreibung aus beil. Buch). Dennoch waren die Bestimmungen sehr genau und können mit den heute üblichen kontinuierlichen, spektroskopischen Verfahren in dieser Hinsicht ohne Probleme mithalten.

Der in Abbildung 1 gezeigte Apparat ist das von R. Prinzinger renovierte Originalgerät von Prof. Merkel. Es wurde nach einer Vorlage in MURALT (1948) gebaut und war lange Zeit in Betrieb. Die folgende Originalbeschreibung des Gerätes stammt aus der zitierten Publikation (MURALT l.c., S. 112-115). Sie zeigt, wie aufwendig und kompliziert das Verfahren war. Da zudem offenes Quecksilber benützt wurde, war es auch nicht ungefährlich, damit zu arbeiten.

## 35. Untersuchung der Atmungsluft.

### a) Die Gasanalyse nach HALDANE.

Platz Nr.

**Aufgabe.** Der Sauerstoff- und Kohlensäuregehalt einer Gasprobe ist zu bestimmen.

**Prinzip der Methode.** Durch Absorption der Gase nacheinander in entsprechenden Absorptionsflüssigkeiten, kann aus der jeweils erfolgenden Volumverminderung der prozentuale Anteil in der Gasprobe bestimmt werden. Wichtig ist die richtige Einhaltung der Reihenfolge der Absorptionen, so daß Gewähr besteht, daß jeweils nur eine Gasart allein absorbiert wurde, ferner die Ausschaltung von Schwankungen des Barometerdruckes und die Durchführung der volumetrischen Messung bei konstanter Temperatur.

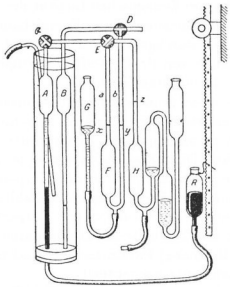


Abb. 75 a. Apparat zur Gasanalyse. (Nach HALDANE.) *A* Gasbürette (10—20 cm³) in Wasserfaß angeordnet mit Quecksilber als „Sperrflüssigkeit" gefüllt. Bei entsprechender Stellung des Dreiwegehahnes *C* und Senkung des Überlaufgefäßes *R* kann das Hg unten aus der Bürette auslaufen und oben die zu analysierende Luft in dieselbe eintreten. Nach Umstellung von *C* wird über den entsprechend gestellten Hahn *E* das Gas nach *F* gedrückt (durch Hochheben von *R*), wo $CO_2$ aus dem Gas durch Kalilauge gebunden wird. Der größte Teil der Lauge weicht dabei nach *G* aus. Nach Rücksaugung des Gasrestes in die Bürette *A* (so lange, bis der Laugenmeniscus wieder bei *z* steht!) kann die mit $CO_2$ gleichbedeutende Volumabnahme abgelesen werden. Nach Umstellung von Hahn *E* wird die $CO_2$-freie Luft in *H* gepreßt. Die dort befindliche Pyrogallollösung bindet $O_2$. Nach der Rücksaugung des Gasrestes in *A*, und zwar bis der Meniskenstand *z* wieder erreicht ist, kann die neuerliche Volumabnahme (gleichbedeutend mit dem $O_2$-Gehalt) abgelesen werden. *B*, *D* und *y* sind eine Ausgleichsvorrichtung für Temperaturfehler. (Aus H. REIN: Physiologie des Menschen, 5./6. Aufl.)

Kalilauge oder Pyrogallol in das System schlossenem Hahn der Nivellierbirne. Wird unter diesen Umständen gehoben, so kollabiert der weiche Gummischlauch und es fließt nur gerade so viel Quecksilber auf die Bürettenseite, daß die Bürette gerade bis zur obersten Marke mit Quecksilber gefüllt wird. Weiteres Heben bringt bei vollständig kollabiertem Schlauch keine weitere Veränderung mehr hervor. Senkt man den Nivellierapparat, so fließt

**Gebraucht werden:** HALDANE-*Apparat*, vgl. Abb. 75 a, eventuell mit automatischer Mischvorrichtung, bei der die Hebung und Senkung der Nivellierbirne durch Hebelübertragung von einem Elektromotor ausgeführt wird (besonders geeignet für Reihenuntersuchungen ist die Aufstellung von 2 Apparaten mit automatischer Mischvorrichtung in der Mitte; während an einer Apparatur abgelesen wird, läßt man an der anderen die Mischvorrichtung laufen) oder für den Studentenkurs sehr geeignet mit Sicherheitsvorrichtung nach BARCROFT[1]. Diese *Sicherheitsvorrichtung* besteht aus einem Zusatzstück:

Die Nivellierbirne trägt an ihrem unteren Ende einen Hahn mit Sicherheitsfeder und an diesen angeschlossen einen Gummischlauch von 9 mm innerem Durchmesser, 2,2 mm Wanddicke und 6 cm Länge. Dieser Schlauch wird mit Isolierband umwickelt, so daß die Windungen sich eben gerade überlappen. Die Dimensionen gelten für den 10-cm³-Apparat. Bei anderen Dimensionen der Gasbürette müssen die Dimensionen entsprechend gewählt werden. Die Mischung des Gases mit der Kalilauge und mit dem Pyrogallol erfolgt nicht durch Heben und Senken der offenen Nivellierbirne, wie es normalerweise durchgeführt wird, wobei die Gefahr besteht, daß der Ungeübte ansaugt, sondern sie erfolgt bei geschlossenem Hahn der Nivellierbirne. Wird diesen Umständen gehoben, so kollabiert der weiche Gummischlauch und es fließt nur gerade so viel Quecksilber auf die Bürette aus, bis das weiche Schlauchstück gerade gefüllt ist und nicht mehr, da es durch das Isolierband gegen weitere Füllung armiert ist. In dieser Weise werden die üblichen „Unglücksfälle" ausgeschaltet. Die Vorrichtung funktioniert richtig, wenn bei offenem Hahn der Quecksilbermeniscus auf die 6-cm³-Marke eingestellt wird, was am besten von einem Assistenten vorgenommen wird. Nach dieser Einstellung und Abschluß des Hahnes, kann der Apparat Ungeübten ruhig überlassen werden.

[1] BARCROFT: J. of Physiol. 84, 23 (1935).





Für Kurszwecke ist sehr geeignet die Ausführungsform des HALDANE-Apparates nach LEE[1] mit Fünfweghahn (vgl. Abb. 75 b).

**Beschreibung des Apparates.** Der Apparat besteht aus der graduierten Gasbürette *A* (10 oder 20 cm³), die mit dem Nivelliergefäß *R* einerseits und einem Dreiweghahn (Fünfweghahn) *C* andererseits verbunden ist. Durch den Dreiweghahn (Fünfweghahn) *C* kann die Gasbürette entweder mit der Außenluft, einem angesetzten Gasprobengefäß, oder aber mit den übrigen Teilen des Apparates verbunden werden. Diese bestehen aus dem Kohlensäure-Absorptionsgefäß *F* (mit Lauge gefüllt), das mit dem Ausweichgefäß *G* und dem Kompensationsgefäß *B* verbunden ist, und dem Sauerstoffabsorptionsgefäß *H* (mit Pyrogallol gefüllt), das auch mit den Ausweichgefäßen verbunden ist.

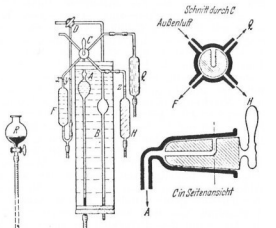


Abb. 75 b. Apparat zur Gasanalyse nach LEE. *A* Gasbürette 10 cm³; *B* Kompensationsbürette; *C* Fünfweghahn; *D* Kompensationshahn; *F* $CO_2$-Absorption; *H* $O_2$-Absorption; *G* $C_2H_4$-Absorption; *x*, *y*, *z* Marken zur Einstellung des Druckes; *R* Nivelliergefäß. [Aus LEE: J. of Physiol. 85 (1935).]

*Kompensationsvorrichtungen.* 1. Barometrische Schwankungen: Um unabhängig vom Barometerdruck zu sein, werden alle Ablesungen auf die „künstliche Atmosphäre" des Kompensationsgefäßes *B* eingestellt, das sich als abgeschlossenes System nicht ändert.

2. Temperatur. Die Einwirkung von Temperaturänderungen wird weitgehend kompensiert, da Kompensationsgefäß *B* und Gasbürette *A* annähernd gleiches Volumen haben und somit bei Temperaturänderungen dieselben Druckänderungen gegensinnig auftreten und sich kompensieren. Um kurzzeitige Temperaturänderungen möglichst zu unterdrücken, sind außerdem beide Gefäße in einem Wasserbad untergebracht, das durch Einblasen von Luft umgerührt werden kann.

*Absorptionsflüssigkeiten.* Für *Kohlensäure.* 10% KOH gesättigt mit NaCl oder $NaNO_3$.

Für *Acetylen.* Quecksilber Cyanid, $Hg(CN)_2$ 20,0 g; Ätznatron, NaOH 8,0 g; $H_2O$ ad 100 cm³; einige Tropfen Glycerin.

Für *Sauerstoff.* Pyrogallol reinst 10 g; Kalilauge, KOH 10 g; $H_2O$ 55 cm³ oder Natriumhydrosulfit 16 g; Kalilauge, KOH 14 g; anthrachinonsulfosaures Natrium, roh 3 g; $H_2O$ ad 100 cm³.

**Ausführung.** *1. Vorbereitung des Apparates.* Hahn *C* wird auf Verbindung der Bürette mit Außenluft gestellt. Außenluft durch Senken des Nivelliergefäßes in die Bürette ziehen. Hahn *C* schließen. Bürette mit Kohlensäureabsorptionsgefäß über Hahn *E* verbinden. Nivellierbirne heben, daß die Luft in das Gefäß *F* getrieben wird, beobachten, wie die Lauge nach *G* ausweicht, senken, daß die Luft wieder nach *A* zurückkehrt. Vorsicht, daß Laugenmeniscus nicht über

[1] LEE: J. of Physiol. 85, 38 (1935).

$x$ herausgeht. Übung in der Einstellung der Menisken $x$ und $y$: $x$ wird durch Bewegung der Niveliierbirne, $y$ durch Bewegen des Gefäßes $G$ eingestellt. Hahn $D$ soll das Kompensationsgefäß mit $F$ verbinden. Kompensationsgefäß und Gasbürette sind jetzt gegen außen abgeschlossen und bilden ein kompensiertes System, in dem immer gleiche Druckbedingungen herrschen, wenn die Menisken $x$ und $y$ genau eingestellt sind. Hahn $E$ (bzw. $C$) auf Verbindung mit dem Sauerstoffabsorptionsgefäß $H$ stellen.

Gas wiederum vorsichtig mehrmals aus der Bürette in das Gefäß hin- und zurücktreiben. Pyrogallolmeniscus muß vor und nach der Prozedur auf $z$ eingestellt sein. Das Rohrensystem ist jetzt mit Stickstoff gefüllt und der Rest des Gases wird aus der Gasbürette (Hahn $C$) nach außen ausgetrieben.

*2. Analyse der Zimmerluft. a) Abmessen des Ausgangsvolumens.* Das Quecksilber soll den Hahn $C$ füllen. Durch Senken wird Zimmerluft in den Apparat eingezogen und durch grobe Einstellung ungefähr 10 cm³ (20 cm³) eingestellt. Verbindung des Hahnes $C$ mit dem Kohlensäureabsorptionsgefäß und feine Einstellung mit der Klemmschraube[1], so daß die Meniscen genau auf $x$ und $y$ stehen. Ablesung des genauen Gasvolumens unter diesen Standardbedingungen mit Lupe unter möglichster Vermeidung der Parallaxe. *b) Die Kohlensäureabsorption.* Niveliergefäß heben, bis das ganze Gas aus der Bürette in das Kohlensäure-Absorptionsgefäß getrieben ist. Höchster Stand des Quecksilbers: Hahnbohrung! Senken bis auf $^2/_3$ der Füllung der Gasbürette. Prozedur 10mal wiederholen. (Durch Durchmischung wird auch das Gas im toten Raum von $C$—$E$ an der Absorption beteiligt.) Senken der Niveliierbirne und zuerst grobe, dann feine Einstellung der Menisken $x$ und $y$. Ablesung des neuen Gasvolumens unter Standardbedingungen mit Lupe. Weitere Mischungen dürfen keine veränderten Ablesungen geben, wenn die ersten 10 Mischungen zur Absorption der ganzen Kohlensäure geführt haben. *c) Die Sauerstoffabsorption.* Hahn $E$ wird auf Verbindung mit dem Sauerstoffabsorptionsgefäß gestellt. 10malige Mischung des Gases mit dem Pyrogallol wie zuvor mit der Lauge. Senken der Niveliierbirne bis zur Einstellung auf die Marke $z$. (Achtung! Das Gasvolumen ist um $^1/_5$ kleiner geworden. Hier wird leicht Pyrogallol hochgezogen, was umständliche Reinigungsarbeiten bedingt.) Zwischen Hahn $E$ und Meniscus $a$ befindet sich jetzt in $a$ noch ein sauerstoffhaltiges Gasvolumen. Mischung dieses Volumens mit dem Büretteninhalt durch entsprechende Stellung des Hahnes $E$. 5malige Mischung des Gases mit dem Pyrogallol, wie zuvor, damit auch dieser letzte Rest noch absorbiert wird. Der Pyrogallolmeniscus wird auf $z$ eingestellt, der Hahn $E$ wird auf Verbindung mit der Lauge gestellt, $y$ und $x$ werden wie zuvor fein eingestellt. Ablesung des neuen Gasvolumens unter Standardbedingungen.

**Berechnung.** Beispiel:

| | |
|---|---|
| Ausgangsvolumen | 9,677 cm³ |
| nach $CO_2$-Absorption | 9,672 cm³ |
| $CO_2$ | 0,005 cm³ |
| nach $O_2$-Absorption | 7,647 cm³ |
| $O_2$ | 2,025 cm³ |

$$\text{Kohlensäure } \frac{0{,}005}{9{,}677} \cdot 100 = 0{,}052\%$$

$$\text{Sauerstoff } \frac{2{,}025}{9{,}677} \cdot 100 = 20{,}93\%$$

Stickstoff und Edelgase = 79,02%

*3. Analyse der Ausatmungsluft.* Die Gasprobe wird in dem Gasprobengefäß an den Apparat angeschlossen. Mit den Dreiwegehahnen wird der tote Raum zwischen Gasprobe und Quecksilbermeniscus sorgfältig mit einem Teil der Probe ausgewaschen. Nachher wird gleich verfahren, wie bei der Abmessung und Analyse der Zimmerluft.

*4. Analyse einer sauerstoffreichen Luft.* Der Apparat wird mit reinem Stickstoff so gefüllt, daß ungefähr 7 cm³ in der Gasbürette sind. Das Volumen wird unter Standardbedingungen abgelesen. Dann wird der Stickstoff vorübergehend in das Laugengefäß gesperrt und die Gasbürette mit dem Gasprobengefäß verbunden.

[1] In den Abb. 75a und b nicht gezeichnet. Befindet sich unter dem Wassermantel.





Von der sauerstoffreichen Gasprobe werden aber nur etwa 2,5 cm³ aufgenommen. Der Hahn $C$ erhält eine $^3/_4$ Drehung, so daß nach allen Seiten Verschluß besteht, um in der Gasbürette leichten Unterdruck durch Senken der Niveliierbirne zu erzeugen. Erst jetzt wird der im Laugengefäß abgesperrte Stickstoff durch weitere Drehung des Hahnes eingelassen. Das Gesamtvolumen wird unter Standardbedingungen gemessen und das Volumen der Probe ergibt sich aus der Differenz zwischen Gesamtvolumen und Stickstoffvolumen. Gasanalyse wie mit Zimmerluft. Die Ergebnisse werden prozentual zum Volumen der Gasprobe berechnet.

*5. Instandhaltung und Reinigung des Apparates.* Die Gasbürette wird gereinigt mit einer Salpetersäure-Alkoholmischung. 20 cm³ Salpetersäure werden mit 5 Tropfen Alkohol versetzt (Vorsicht, nicht mehr!) und sofort in die Gasbürette eingesaugt. Zweckmäßig ist das Einsaugen von unten her nach Entfernung des Quecksilbers und des Schlauches zur Niveliierbirne. Stehenlassen über Nacht. Nachwaschen mit destilliertem Wasser und zuletzt mit schwach angesäuertem Wasser ($H_2SO_4$ oder Milchsäure). Anschluß des Niveliergefäßes und Austreiben der letzten Wasserreste mit dem Quecksilber durch Hahn $C$.

„Unglücksfall": Pyrogallol oder Lauge ist angesaugt worden. Hahn $E$ entfernen und waschen. Hahnbohrung mit Watte ausfüllen. Mit einem auf Hahn $C$ aufgesetzten Schlauch destilliertes Wasser in die Gasbürette ein- und auspumpen durch entsprechende Bewegung der Niveliierbirne. Hahn $C$ so stellen, daß ein kleiner Teil destilliertes Wasser durch die horizontale Verbindung läuft und von der Watte im Hahn $E$ aufgesogen wird. Rest wieder in die Gasbürette zurückziehen und durch $C$ ausstoßen. Watte ersetzen und wiederholen, bis alles Pyrogallol und Alkali verschwunden ist. Letzte Spülung mit angesäuertem Wasser. Hahnen trocknen und frisch fetten. Die Steigrohre zu den Absorptionsgefäßen können mit Pfeifenputzern, die in angesäuertes Wasser getaucht wurden, von der Hahnbohrung aus gereinigt werden.

*6. Gasanalyse mit Acetylen.*

**Aufgabe.** Ein Gemisch von Luft mit Acetylen ist zu analysieren. (*Verwendung* bei Bestimmung des Herzminutenvolumens.)

**Prinzip der Methode.** Es wird in der Reihenfolge Kohlensäure, Acetylen, Sauerstoff absorbiert. Bei der Kohlensäureabsorption wird immer ein geringer Teil des Acetylens absorbiert. Die Zahl der Durchtreibungen durch den Kohlensäure-Absorptionsturm muß daher festgelegt werden und darf von einem Versuch zum andern nicht geändert werden. Smalige Absorption sichert vollständige Kohlensäureabsorption. Die Acetylenabsorption muß sofort angeschlossen werden.

**Gebraucht werden:** HALDANE-Apparat mit 3 Absorptionsgefäßen: 1. Kalilauge ($F$); 2. Quecksilber-Cyanid ($Q$); 3. Pyrogallol oder Natriumhydrosulfit ($H$); Apparat nach LEE (vgl. Abb. 75b).

**Ausführung.** Im Prinzip gleiche Ausführung, wie bei der Analyse der Ausatmungsluft, Reihenfolge der Absorptionen: Kohlensäure, Acetylen, Sauerstoff. Bei der Kohlensäureabsorption wird eine feste Zahl der Absorptionen eingehalten.

**Berechnung.** Die Berechnung der prozentualen Anteile ist normal. Wird aus dem geschlossenen Sacksystem nach der GROLLMANN-Methode hin- und hergeatmet, dann muß die Volumänderung berücksichtigt werden.

Der Korrekturfaktor ergibt sich aus folgender Beziehung:

$$V_I : V_{II} = (N_2)_{II} : (N_2)_I,$$

worin $V_I$ und $V_{II}$ die Gesamtvolumina vor und nach Ablauf der Versuchsperiode sind. $(N_2)_I$ und $(N_2)_{II}$ sind die entsprechenden Teilvolumina des Stickstoffes, der am Gasaustausch unbeteiligt ist und somit mit reinem Teilvolumen der Änderung des Gesamtvolumens umgekehrt proportional ist (vgl. auch Berechnung bei der Sackmethode, S. 139).

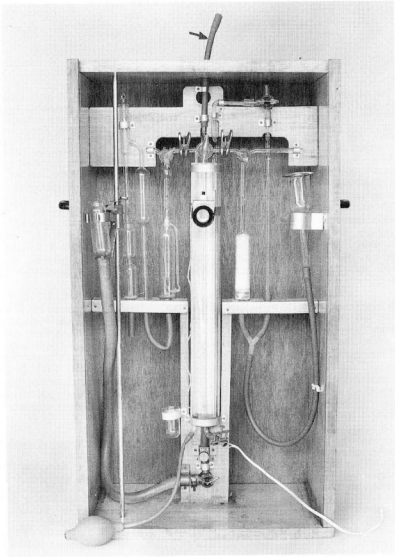

Abb. 1: Fotografie der Original HALDANE-Apparatur von Prof. Dr. F. Merkel. Erklärung siehe Originaltext mit Abb. 75a. Die Analysenluft wurde in das mit einem Pfeil gekennzeichnete Schlauchende eingeführt. Sonstige Bezeichnungen wie in Abb. 75a des Textes.

## Literatur

MURALT, VON A. (1948): Einführung in die praktische Physiologie. - Springer-Verlag, Berlin und Heidelberg.

## Anschrift des Verfassers:

Prof. Roland Prinzinger, AK Stoffwechselphysiologie, Zoologische Institut, Siesmayerstraße 70, 6000 Frankfurt/Main 1.