

## Literatur

1. HELFRICH, B. und G. SPARMBERG, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 221, 92 (1933). — 2. FISHMAN, W. H., in: SUMNER J. B. und K. MYRBÄCK, The Enzymes, Bd. I/1. Academic Press Inc. Publ., New York (1950). — 3. FISHMAN, W. H., J. biol. Chemistry 131, 225 (1939). — 4. NIMMO-SMITH, R. H., Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) 50, 166 (1961). — 5. SPENCER, B. und R. T. WILLIAMS, Biochem. J. 48, 537 (1951). — 6. ABUL-FADL, M. A. M. J. Clin. Path., London 10, 387 (1957). — 7. BERNFELD, P. und W. H. FISHMAN, Science (New York) 112, 653 (1950). — 8. NAYYAR, S. N. und D. GLICK, J. biol. Chemistry 222, 73 (1956). — 9. SMITH, E. E. B. und G. T. MILLS, Biochem. J. 52, 464 (1952). — 10. LEVY, G. A., A. J. HAY und C. A. MARSH, Biochem. J. 65, 203 (1957). — 11. LEVY, G. A. und C. A. MARSH, Nature (London) 180, 197 (1957). — 12. DOHRMANN, R. und H. J. UHLES, Klin. Wschr. 41, 527 (1963). — 13. WALKER, P. G. und G. A. LEVY, Biochem. J. 54, 56 (1953). — 14. ROBINSON, D., J. N. SMITH und R. T. WILLIAMS, Biochem. J. 53, 125 (1953). — 15. BILLETT, F., Biochem. J. 57, 159 (1954). — 16. BRAHM, C., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 28, 439 (1899). — 17. FISCHER, E., Anleitung zur Darstellung organischer Präparate, 9. Aufl., Verlag Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig (1920). — 18. DOHRMANN, R. und R. KLESNER, Klin. Wschr. 38, 595 (1960). — 19. DOHRMANN, R., Zschr. exper. Med. 132, 585 (1960). — 20. DOHRMANN, R., Habil.-Schrift, Bonn (1961). — 21. GOLDBERG, J. A., E. P. PINEDA, B. M. BANKS und A. M. RUTENBURG, Gastroenterology, Baltimore 36, 192 (1959). — 22. HACKENSELLNER, H. A., F. SEELICH und H. LIND, Wien. klin. Wschr. 70, 28 (1958). — 23. TALALAY, P., W. H. FISHMAN und C. HUGGIN, J. biol. Chemistry 166, 757 (1946). — 24. DOHRMANN, R., Dtsch. Arch. klin. Med. 206, 322 (1960). — 25. FISHMAN, W. H., B. SPRINGER und R. BRUNETTI, J. biol. Chemistry 173, 449 (1948). — 26. DI SOMMA, A. A., J. biol. Chemistry 133, 277 (1940). — 27. GOLDSTEIN, G., Clin. Chem. (New York) 7, 136 (1961). — 28. PLAICE, C. H. J., J. Clin. Path., London 14, 661 (1961). — 29. KERR, L. M. H., A. F. GRAHAM und G. A. LEVY, Biochem. J. 42, 191 (1948). — 30. METHFESSEL, J. und R. NILIUS, Acta biol. med. german. 13, 411 (1964). — 31. NILIUS, R., Inaug.-Diss., Halle (1961).

Dr. med. R. Nilius  
I. Med. Klinik der Universität  
Halle-Wittenberg  
X 402 Halle/Saale, Leninallee 22

## Die Bestimmung der Triglyceride im Serum mit der Hantzsch-Reaktion

Von F. DUNSBACH

Aus dem Chemisch-Physiologischen Institut des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg, Hamburg  
(Leiter: Dr. phil. F. Fretwurst)

(Eingegangen am 26. November 1965)

Es wird eine Methode zur Bestimmung der Triglyceride im Blutserum mit Hilfe der *Hantzsch*-Reaktion beschrieben. Nach adsorptiver Abtrennung der übrigen glycerinhaltigen Lipidfraktionen wird das durch Verseifung der Triglyceride erhaltene Glycerin mit Perjodat zu Formaldehyd oxydiert und der entstandene Formaldehyd mit Acetylaceton und Ammoniumsalz in essigsaurer Lösung zu Diacetyldihydrolutidin umgesetzt. Die gelbgefärbte amylnalkoholische Lösung wird bei 400–420 m $\mu$  photometriert.

A method is described for the determination of triglycerides in blood serum with the aid of the *Hantzsch* reaction. After removal of the remaining glycerol-containing lipid fractions by adsorption, the glycerol obtained by saponification of the triglycerides is oxidised to formaldehyde with periodate and the resulting formaldehyde converted into diacetyldihydrolutidine with acetyl acetone and ammonium salt in acetic acid solution. The yellow amylnalcoholic solution is quantised photometrically at 400–420 m $\mu$ .

Die steigende Bedeutung der Erfassung von Lipidstoffwechselstörungen durch biochemische Methoden führte in den letzten Jahren zu einer Reihe von Veröffentlichungen über die Bestimmung der Triglyceride im Blutserum und Blutplasma. Dabei sind bis heute drei in ihren Grundzügen verschiedene Methoden bekannt geworden. So bestimmten VAN HANDEL und ZILVERSMIT (1) die Triglyceride nach Abtrennung der übrigen glycerinhaltigen Serumlipide (Adsorption an „Doucil“) durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge, Oxydation des entstandenen Glycerins mit Perjodat zu Formaldehyd und Umsetzung des Formaldehyds mit Chromotropsäure nach LAMBERT und NEISH (2). MENDELSON und ANTONIS (3) bedienten sich zur Bestimmung des freigesetzten Glycerins der *Skraup*'schen Chinolinsynthese, bei der Glycerin mit o-Aminophenol in Schwefelsäure bei Anwesenheit eines Oxydations-

mittels zu 8-Oxychinolin umgesetzt wird, dessen Magnesiumsalz fluorimetrisch gemessen wird. EGGSTEIN und KREUTZ (4) beschrieben eine direkte enzymatische Methode zur Bestimmung der Triglyceride, die auf der Bildung von  $\alpha$ -Glycerophosphat aus dem durch Verseifung freigesetzten Glycerin und ATP bei Anwesenheit von Glycerokinase beruht.

Die hier beschriebene Methode lehnt sich insofern an die von VAN HANDEL und ZILVERSMIT an, als auch hier die Trennung der Triglyceride von den übrigen glycerinhaltigen Bestandteilen mit Hilfe eines Adsorbens, Verseifen der Triglyceride zu Glycerin und Fettsäuren und Oxydation des Glycerins mit Perjodat zu Formaldehyd erfolgt. Zur Bestimmung des Formaldehyds dient die Reaktion nach HANTZSCH (5). Diese Reaktion wurde von NASH (6) zur Bestimmung des Formaldehyds beschrieben und beruht darauf, daß Formaldehyd mit Acetyl-



Lösung zur Entfernung des Wassers Natriumsulfat zugesetzt werden. Der Zusatz von Natriumsulfat verhindert außerdem eine Trübung der Lösung durch ausfallendes Wasser, die leicht eintritt, wenn nicht sofort abgelesen wird (größere Serien) oder wenn Temperaturschwankungen auftreten.

Die Eichkurve (Abb. 2) zeigt, daß das *Lambert-Beer'sche* Gesetz bis zu einer Konzentration von etwa 700 mg% gilt. Höhere Konzentrationen zeigen sich durch starke Trübung des Serums an, so daß man durch Einsetzen von 1 ml bzw. 0,5 ml der nach Adsorption erhaltenen Chloroformlösung den gesamten möglichen Bereich erfassen kann. Triglyceridwerte über 1000 mg% sind selten; bei 500 Untersuchungen fanden wir nur 7 Fälle (maximal 2100 mg%).

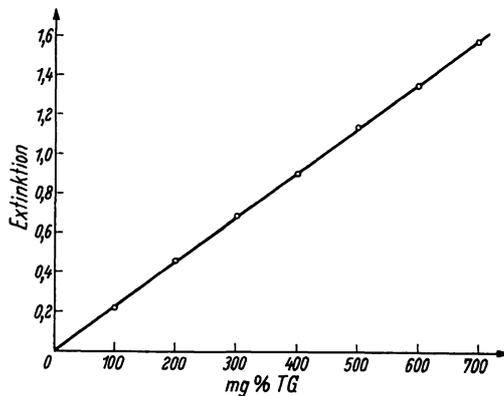


Abb. 2

Eichkurve für Photometer Leifo E; Filter 420, 1 cm Schichtdicke, Faktor F = 445

Der Leerwert wurde nach zwei Methoden bestimmt. Bei 50 Proben wurden vom Chloroformextrakt je 2 ml in zwei Reagenzgläser pipettiert. Nach Abdampfen des Chloroforms wurde zum 1. Glas (Versuch) alkoholische Kalilauge, zum 2. Glas (Leerversuch) 96-proz. reiner Alkohol gegeben. Beide Proben wurden nach Vorschrift weiterverarbeitet. Die Extinktion des so erhaltenen Leerwertes stimmte mit dem Leerwert nach der Arbeitsvorschrift (ohne Chloroformextrakt) überein, so daß sich der Ansatz ohne Verseifung erübrigt.

### Reproduzierbarkeit und Genauigkeit der Methode

Zur Errechnung des mittleren Fehlers wurden 100 Doppelbestimmungen durchgeführt. Er wurde wie folgt errechnet:

$$F_m = \sqrt{\frac{\sum \Delta^2}{N}}$$

N = Anzahl der Doppelbest.;  $\Delta$  = Abweichung der Doppelbest.; Gefundener mittlerer Fehler  $F_m = 2,3$  mg%.

Ferner wurden zwei Seren steigende Mengen Triglyceride zugesetzt. Dazu wurden zu je 1 ml Serum 1–5 ml einer 50 mg% Standardlösung zugesetzt, die Chloroformlösung ad 20 ml aufgefüllt, 4 g Kieselgel zugegeben und die Bestimmung wie beschrieben durchgeführt. Das Ergebnis zeigt Tabelle 1.

Tab. 1  
Wiedergewinnung zugesetzter Triglyceride  
(Werte in mg%)

Serum Eigengehalt		Zugesetzt		Erhalten		Wiedergefunden	
A	B	A	B	A	B	A	B
		50	50	156	265	49	52
		100	100	207	312	100	99
107	213	150	150	259	364	152	151
		200	200	308	416	201	203
		250	250	356	463	249	250

### Normalwerte

Zur Bestimmung der Normalwerte wurden aus dem Krankengut solche Fälle untersucht, die nach der Diagnose keine unnormalen Lipidwerte erwarten ließen. Außerdem wurde zu jeder Triglyceridbestimmung eine Cholesterinbestimmung nach SCHÖNHEIMER und SPERRY (9) durchgeführt. Seren mit einem Cholesterinwert über 260 mg% wurden für die Berechnung der Normalwerte nicht berücksichtigt. Unter diesen Voraussetzungen ergaben sich aus 200 Analysen Normalwerte von 40–128 mg%, im Mittel 86 mg%.

✓ Frau E. GRAHL danke ich für die wertvolle technische Hilfe bei der Durchführung der Bestimmungen. Herrn Dr. F. FRETWURST danke ich für das fördernde Interesse, das er dieser Arbeit entgegenbrachte.

### Literatur

1. VAN HANDEL, E. und D. B. ZILVERSMIT, J. *Laborat. Clin. Med.*, S. Louis 50, 152 (1957). — 2. LAMBERT, M. und A. C. NEISH, *Canad. J. Res., Sect. 28*, 83 (1950). — 3. MENDELSON, D. und A. ANTONIS, *J. Lipid Res.* 2, 45 (1961). — 4. EGGSTEIN, M. und F. KREUTZ in: ZÖLLNER, N. und D. EBERHAGEN, *Untersuchung und Bestimmung der Lipide im Blut*. Springer-Verlag, Berlin

Heidelberg-New York (1965). — 5. HANTZSCH, A., *Liebigs Ann. Chem.* 215, 1 (1882). — 6. NASH, T., *Biochem. J.* 55, 416 (1953). — 7. BORGSTRÖM, B., *Acta physiol. scand.* 25, 101 (1952). — 8. TRAPPE, W., *Biochem. Z.* 305, 150 (1940). — 9. SCHÖNHEIMER, R. und W. M. SPERRY, *J. biol. Chemistry* 106, 745 (1934); 110, 150 (1935).

Dr. rer. nat. F. Dunsbach  
Krankenhaus Nordwest  
Zentrallabor  
6 Frankfurt/M 21  
Steinbacher Hohl 2–26