

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
7. Jg., S. 56—59, Januar 1969

Mikrochemische Zinkbestimmung im Serum und Urin¹⁾

Von H. H. HELLWEGE, H. SCHMALFUSS und D. GOSCHENHOFER

Aus der Universitäts-Kinderklinik Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. K. H. Schäfer)

(Eingegangen am 7. Oktober 1968)

Es wird eine Mikromethode zur Bestimmung des Serumzinks mitgeteilt, die nur 0,1 ml Serum pro Bestimmung benötigt. Die Genauigkeit der entwickelten Mikromethode ist der der bekannten Makromethoden zumindest gleichwertig. Eine analoge Methode zur Bestimmung des Urin-Zinkgehaltes wurde entwickelt und ihre Brauchbarkeit festgestellt. Es wurden Normalwerte für alle Altersgruppen der Kindheit bestimmt. Es fand sich in allen Altersgruppen ein Serumzinkspiegel um 112 µg/100 ml.

Microchemical determination of zinc in serum and urine

A micromethod, requiring only 0.1 ml serum, is reported for the measurement of serum zinc. The accuracy is at least equal to that of the known macromethods. An analogous method was developed for the determination of zinc in urine and its applicability was demonstrated. Normal values were determined for all juvenile age groups. In all age groups, the serum zinc level was 112 µg/100 ml.

Bei den gewöhnlich angewandten Methoden zur Zinkbestimmung ergeben sich erhebliche methodische Schwierigkeiten. Deshalb wird die Zinkbestimmung im Gegensatz zur Eisen- und Kupferbestimmung als klinische Untersuchungsmethode noch wenig angewandt.

Bei der vorwiegend benutzten Dithizon-Methode muß im Zweiphasensystem gearbeitet werden. Dabei wird das Zink aus der wäßr. Phase in die das Nachweisreagenz enthaltende Tetrachlorkohlenstoffphase überführt. Bei den in der Gebrauchslösung vorliegenden Verdünnungen ist das Nachweisreagenz Dithizon gegen Wärme und Tageslicht sehr empfindlich und ändert bei unsachgemäßer Benutzung durch teilweisen Zerfall seine Farbe in photometrisch meßbarer Größenordnung schon im Zeitraum von einigen Minuten. Darüber hinaus verlangen die bisher beschriebenen Methoden 1—2 ml Serum pro Bestimmung, Mengen, die in der Pädiatrie häufig nicht zur Verfügung stehen.

Mit den bekannten Methoden war es daher nicht möglich, die von uns geplanten Untersuchungen des Zinkstoffwechsels bei Frühgeborenen, Neugeborenen und Kleinkindern durchzuführen. Es mußte eine neue mikrochemische Bestimmungsmethode ausgearbeitet werden, bei der nur ein Zehntel bis ein Zwanzigstel der bisher verwandten Serumengen benötigt werden (1). Diese Mikromethode ermöglicht durch die Benutzung kleiner Röhrchen und Gefäße ein schnelles Arbeiten und eine weitgehende Benutzung der Dithizonlösung unter Lichtabschluß.

Methodik

Prinzip

Nach Freisetzung des Serumzinks mit 1N HCl wird das Eiweiß mit 3M Trichloressigsäure ausgefällt und abzentrifugiert. 0,1 ml des klaren Überstandes werden mit einem Puffer, dessen pH-Wert und Zusätze an Maskierungsmitteln („Tarnpuffergemisch“), die ausschließliche Reaktion des Nachweisreagenz Dithizon mit Zink garantieren, versetzt. Mit dem Dithizon wird das Zink ausgeschüttelt und als rotes Dithizonat in der Tetrachlorkohlenstoffphase bei einer Wellenlänge von 546 nm photometrisch gemessen (2, 3).

¹⁾ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Arbeitsvorschrift, Serumzinkbestimmung

Bei der Verarbeitung der Serumproben wurde das Mikroprogramm der Fa. Netheler & Hinz und das Photometer Eppendorf mit Mikroküvette verwendet.

Gewinnung des Serums: Mit zinkfreien Kanülen wird eine Vene punktiert, der erste Tropfen verworfen, dann etwa 1 ml Blut (ausreichend für eine Doppelbestimmung) in zinkfreien Polyäthylenröhrchen aufgefangen, 2 Min. bei 17000 U./Min. zentrifugiert, das Serum mit Marburg-Pipetten mit zinkfreien Spitzen in neue Röhrchen abpipettiert und im Kühlschrank verwahrt.

Verarbeitung des Serums: In je zwei Polyäthylenröhrchen werden je 100 µl bidest. Wasser (Leerwert), eingestellte Zinkstandardlösung (100 µg/100 ml Standard) bzw. Serum pipettiert. Pro Röhrchen werden 50 µl 1N HCl hinzugegeben, es wird 5 Min. auf dem Rütteltisch geschüttelt, kurz zentrifugiert und der Ansatz 15 Min. stehengelassen. Anschließend werden je 20 µl 3M Trichloressigsäure zugegeben, es wird 5 Min. geschüttelt und 2 Min. bei 17000 U./Min. zentrifugiert. Je 100 µl des Überstandes werden in neue Röhrchen pipettiert, darauf 100 µl Tarnpuffergemisch hinzugegeben. Hierzu kommen jeweils 300 µl Dithizongebrauchslösung; die Röhrchen werden sofort verschlossen und in einen lichtdichten Kasten verbracht und 20 Min. kräftig geschüttelt. Das Schütteln unter Lichtabschluß ist nötig, da das verdünnte Dithizon unter Lichteinwirkung sehr schnell zerfällt. Zuletzt werden die Phasen durch 2 Min. Zentrifugieren bei 17000 U./Min. getrennt. Die untere Tetrachlorkohlenstoffphase mit dem Zinkdithizonat wird vorsichtig in die Mikroküvette überpipettiert (je 200 µl) und im abgedunkelten Raum photometriert.

Bestimmung der Zinkwerte: Wir stellen den Nullpunkt des Photometers gegen Luft ein. Zur Kontrolle werden die Extinktionen der trockenen, leeren Küvette und der Dithizonlösung gemessen. Da die Dithizongebrauchslösung und in geringerem Maße auch das Tarnpuffergemisch keine auf die Dauer konstanten Lösungen darstellen, empfiehlt es sich, bei jeder Bestimmungsreihe folgenden Faktor neu zu bestimmen:

$$F = \frac{\text{Konzentrationsstandard}}{\text{ExtinktionStandard} - \text{ExtinktionLeerwert}} \cdot \mu\text{g}/100 \text{ ml}$$

Die Serumzinkwerte ergeben sich dann aus den gemessenen Extinktionen nach folgender Formel in µg/100 ml:

$$\text{Konzentration Zinkserum} = F \cdot (\text{Ext. Serum} - \text{Ext. Leerwert})$$

Benötigte Lösungen

1. 1N Salzsäure
2. 3M Trichloressigsäure

In Kürze erscheint:

Heinzgeorg Vogelsang

Die spinale Ossovenographie

Eine diagnostische Methode zur Erkennung pathologischer Prozesse der Wirbelsäule und des Spinalkanals

Groß-Oktav. 123 Seiten. Mit 122 Abbildungen und 11 Tabellen. 1969. Plastik flexibel etwa DM 36,—

Im Gegensatz zu den in der cerebralen Diagnostik dominierenden angiographischen Verfahren werden die spinalen Gefäße bisher weitgehend vernachlässigt. Die Möglichkeit, das ausgedehnte Venensystem der Wirbelsäule und des Spinalkanals durch eine einfache Methode sichtbar zu machen, ist zwar seit 1952 bekannt, ihr wurde jedoch wenig Beachtung geschenkt. Die engen Beziehungen der Venensysteme zum Rückenmark und seinen Häuten sowie den austretenden Nervenwurzeln einerseits und zur Wirbelsäule andererseits ermöglichen es, pathologische Prozesse, die sich in unmittelbarer Nachbarschaft oder an den Venen selbst abspielen, sicher zu erfassen. Die Einfachheit der Untersuchungsmethode — Injektion von Kontrastmittel in einen Dornfortsatz oder einen Wirbelkörper im Halsbereich — sowie die fehlende Belastung des Patienten, machen sie zu einer wichtigen diagnostischen Maßnahme, auf die nicht mehr verzichtet werden sollte.

Der Verfasser hat seine reichen, anhand eines großen Untersuchungsmaterials gesammelten Erfahrungen mit der spinalen Ossovenographie in einer Monographie niedergelegt. Neben einer ausführlichen Literaturübersicht und Wiedergabe der von ihm gehandhabten Untersuchungstechniken werden Anatomie und Physiologie der Venensysteme sowie das normale Phlebogramm der einzelnen Wirbelsäulenabschnitte besprochen. Die erhobenen Befunde bei den verschiedenen Krankheitsbildern der Wirbelsäule und des Spinalkanals (u. a. Osteochondrosen einschließlich Bandscheibenvorfälle, Spondylolystesis, destruierende Wirbelsäulenprozesse verschiedener Genese, traumatische Veränderungen, epi- und intradurale raumfordernde Prozesse, spinale Angiome, entzündliche Veränderungen) nehmen ebenso wie die Diskussion über den Wert und die Aussagekraft der Methode — auch im Vergleich zu myelographischen Untersuchungen — einen breiten Raum ein. Indikation, Kontraindikation, Komplikationen und Grenzen der Methode werden abgehandelt. Zahlreiche Abbildungen und Tabellen veranschaulichen und unterstreichen die Ausführungen. Eine diagnostische Lücke in der spinalen/vertebralen Diagnostik dürfte damit geschlossen sein.

Priv.-Dozent Dr. med. HEINZGEORG VOGELANG ist Leiter der Neuroradiologischen Abteilung an der Neurochirurgischen Universitäts-Klinik Gießen.



Walter de Gruyter & Co : Berlin

Wertvolles
Fachbuch



Strahlenchemie

Grundlagen - Technik - Anwendung

Herausgegeben von Prof. Dr. K. Kaindl und Prof. Dr. Dr. E. H. Graul unter Mitarbeit von Dipl.-Ing. H. Bauer, Dr. N. Getoff, Dr. G. R. A. Johnson, Dr. O. F. Olaj, Dr. E. Proksch, Dr. H. Sorantin und Dipl.-Ing. N. Weidinger

645 Seiten. Mit 236 Abbildungen und 95 Tabellen. Kunststoffeinband mit Schutzumschlag 92,— DM

Das Buch gibt einen Überblick über die Grundlagen der Wechselwirkung Strahlung/Materie, der Besprechung der zur Verfügung stehenden Strahlenquellen, der Dosimetrie, der Strahlenwirkung auf anorganische und organische Stoffe, der Wirkung von Strahlung auf Katalysatoren sowie der Möglichkeiten und der Wirtschaftlichkeit industrieller Strahlenanlagen.

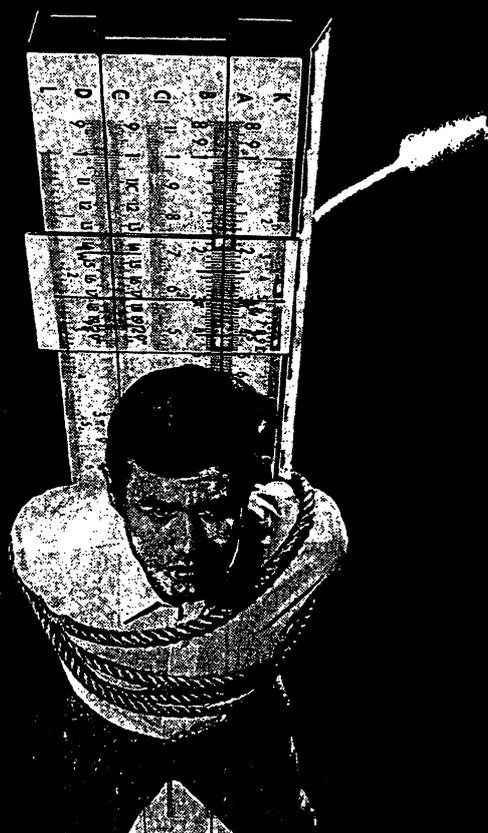
Aus dem Inhalt: Definition und Abgrenzung - Historische Entwicklung - Strahlung und Materie - Strahlenarten - Allgemeine physikalische Maßsysteme und Umrechnungsfaktoren - Allgemeine physikalische Konstanten - Definitionen - Einheiten und Umrechnungsfaktoren aus der Atomphysik - Grundlagen zur Berechnung der Dosisleistung von α -Strahlenquellen - Korpuskularstrahlen - Photonenstrahlen - Dosimetrie - Strahlenschutz - Strahlung und Materie - Strahlenarten - Strahlenquellen - Nukleare Strahlenquellen - Maschinen zur Strahlerzeugung - Chemische Dosimetrie - Flüssige Dosimetersysteme - Feste Dosimetersysteme - Gasförmige Dosimeter - Strahlenchemie des Wassers - Strahlenchemie wässriger Lösungen organischer Stoffe - Strahlenchemie der Polymere - Die Bildung von Hochpolymeren durch energiereiche Strahlung - Strahlungseinwirkung auf feste Polymere - Radiolyse organischer Reaktorkühlmittel - Strahlenchemie gefrorener Lösungen - Einwirkung von Strahlung auf anorganische Festkörper - Strahlenwirkung auf Katalysatoren - Oxidische Katalysatoren - Markierte Katalysatoren - Metallische Katalysatoren - Anwendung von bestrahlten Katalysatoren - The Radiation Chemistry of Inorganic Gases - Introduction - Theoretical - Experimental Methods - The Radiation Chemistry of Some Inorganic Gaseous Systems.

Zu beziehen durch Buchhandlungen im In- und Ausland, andernfalls durch den Verlag.

Auf Anforderung übersenden wir Ihnen gern unseren Spezialprospekt sowie unseren Katalog „Chemie, Chemische Technik, Makromolekulare Chemie, Kunststoffe, Brandschutz, Erdöl und Erdgas“.

Dr. Alfred Hüthig
Verlag GmbH

Heidelberg
Mainz
Basel



Deutschlands Wissenschaftler, Ingenieure,
Techniker, Konstrukteure, Statiker, Architekten fordern:

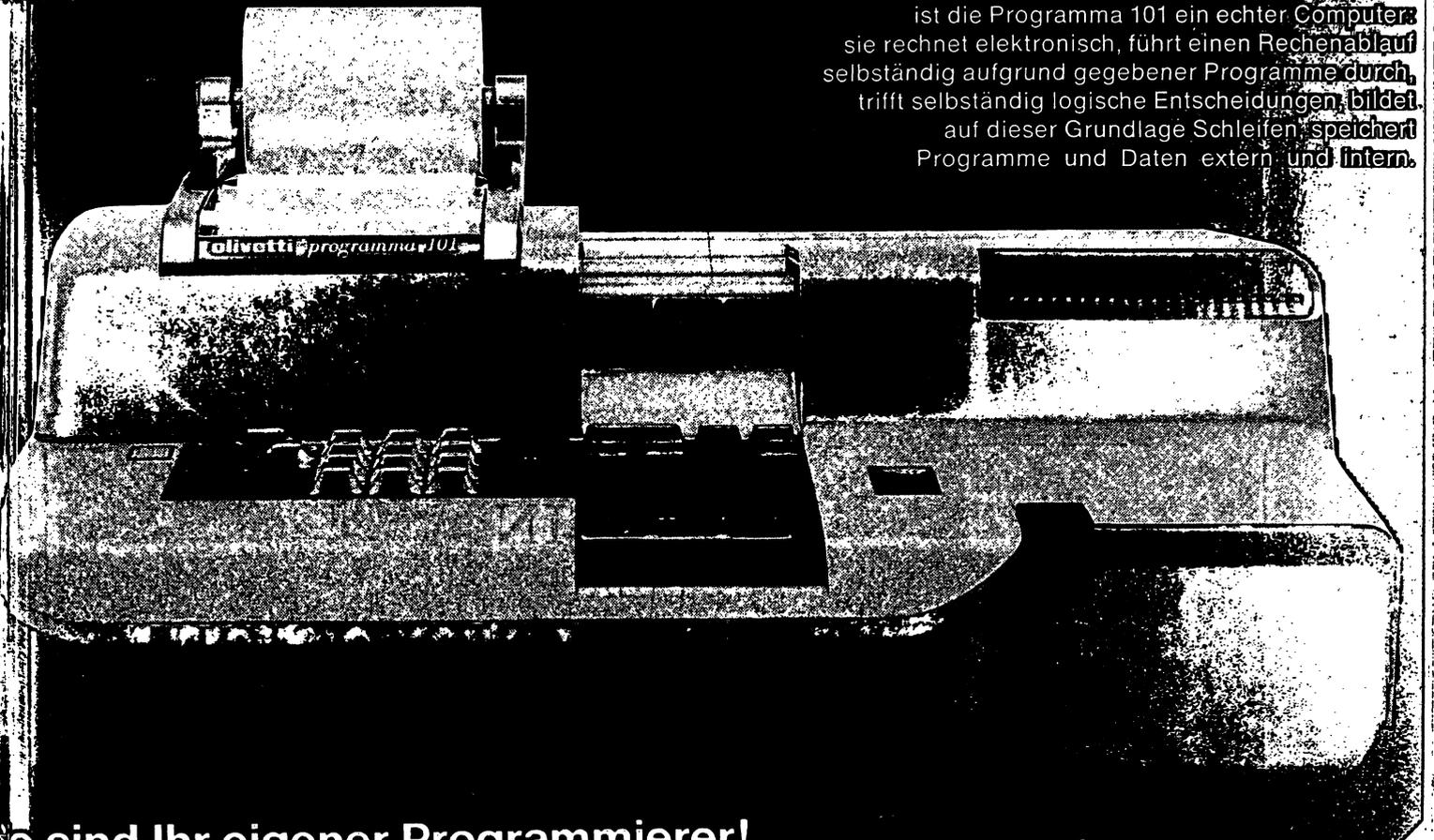
**„Freiheit für
die kreative Arbeit“**

Die Programma 101 befreit Sie vom Routine-Rechnen!

Sie brauchen keine Logarithmentafeln, keine Funktionstabellen, keine Rechenmaschinen mehr. Wenn Sie Daten und Informationen brauchen, stehen sie Ihnen zur Verfügung. Ihre Arbeit wird nicht unterbrochen. Sie sparen Zeit. Sie sind aktiver. Sie sind produktiver.

Programma 101 – ein Computer maßgeschneidert für Ihren Arbeitsplatz

Der Weg zum Rechenzentrum, der sowieso nur bei sehr umfangreichen Rechenoperationen lohnt, bleibt Ihnen erspart. Ihr Computer steht dort, wo er gebraucht wird: an Ihrem Arbeitsplatz. Obwohl nur so groß wie eine elektrische Schreibmaschine, ist die Programma 101 ein echter Computer: sie rechnet elektronisch, führt einen Rechenablauf selbständig aufgrund gegebener Programme durch, trifft selbständig logische Entscheidungen, bildet auf dieser Grundlage Schleifen, speichert Programme und Daten extern und intern.



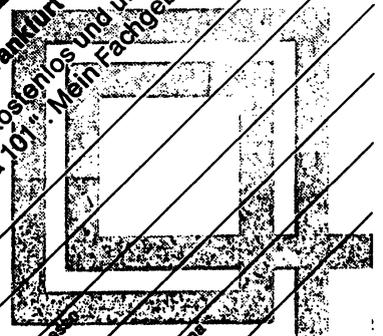
Sie sind Ihr eigener Programmierer!

Programmieren Sie einfach die Magnetkarte mit dem gewünschten Programm von Olivetti, oder erstellen Sie es selbst. Ein Knopfdruck – und Sie sind jederzeit in der Lage, selbst zu programmieren. Ohne Zusatzgerät. Ohne spezielle Computer-Tastatur. Füttern Sie den Computer mit Ihrem Programm, tasten Sie die variablen Tasten über die Zehner-Normtastatur ein, und geben Sie den Startimpuls: mit elektronischer Geschwindigkeit rechnet, entscheidet, drückt, speichert und programmiert Ihr Tischcomputer für Sie. **Und das für weniger als 15000 DM.** Wenn Sie mehr über die Programma 101 wissen? Drücken Sie den Coupon ein!

Olivetti stellt Ihnen über 2000 Programme für folgende Fachgebiete bereit:

Mathematik, Medizin, Chemie, Elektrotechnik, Maschinenbau, Apparatebau, Feinmechanik, allgemeine Statistik, Statik (Betonbau, Stahlbau, Holzbau, Brückenbau).

Deutsche Olivetti GmbH, 6 Frankfurt am Main, Zell 53, Olivetti-Haus
Bitte informieren Sie mich kostenlos und unverbindlich über Ihren Tischcomputer „Programma 101“. Mein Fachgebiet ist



Handbuch des Diabetes mellitus

Pathophysiologie und Klinik

Herausgegeben von Professor Dr. ERNST F. PFEIFFER, Ulm/Donau

Band I

XXXII / 964 Seiten mit 178 zum Teil farbigen Abbildungen
und 41 Tabellen
Leinen 290,— DM

Band II

erscheint im Laufe des Jahres 1969. Etwa 1000 Seiten mit zahlreichen
Abbildungen
Leinen etwa 290,— DM

Bezieher des Bandes I

erhalten den Band II zu einem um 20% ermäßigten Vorbestellpreis

NEUERSCHEINUNG

Charakteristik des Werkes

Dieses „Handbuch des Diabetes mellitus“ entspricht nur nach Umfang und Titel dem klassischen Handbuchbegriff, nicht jedoch nach Ausbau und Inhalt. Der Herausgeber hat es verstanden, in zwei Bänden einerseits Theorie und Praxis der rapide fortschreitenden Diabetesforschung, andererseits Ätiologie, Pathogenese, Diagnose und Therapie der menschlichen Zuckerkrankheit zusammen mit führenden internationalen Diabetologen in Deutsch oder Englisch umfassend und doch konzise zu erörtern.

In dem vorliegenden ersten Band werden nach einer als Einleitung verfaßten Besprechung der wechselnden Anschauungen über Ätiologie und Pathogenese der Zuckerkrankheit in drei Hauptabschnitten die Morphologie und Physiologie der Langerhansschen Inseln, der Intermediärstoffwechsel und seine Regulation sowie der spontane und experimentelle tierische Diabetes von 43 kompetenten Autoren erörtert.



J. F. LEHMANNS VERLAG MÜNCHEN

BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE

(„Berichte der Gesellschaft für biologische Chemie“)

Unter Mitwirkung des
„CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE“
(National-Centrum für wissenschaftliche Forschung) veröffentlicht

R. PERLÈS
Hilfs-Generalsekretär

J. E. COURTOIS
Generalsekretär

Y. RAOUL
Hauptredakteur

Sekretariat und Redaktion
4, avenue de l'Observatoire, Paris (6^e)

Herausgeber:
MASSON et CIE, 120, Boulevard Saint-Germain, Paris (6^e)

Der „BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE“ veröffentlicht jährlich 11 Hefte; diese enthalten die Arbeiten der französischen Biochemiker, welche der „SOCIÉTÉ DE CHIMIE BIOLOGIQUE“ (Gesellschaft für biologische Chemie) angehören.

Abonnementspreis 1969:

Frankreich und „Franc-Zone“ . . . 150 francs
Belgien 1684 belges
Andere Länder 165 francs

Beide Gebrauchslösungen werden durch Verdünnen der konzentrierten, redestillierten Säuren mit bidest. Wasser hergestellt und in zinkfreien Polyäthylen-Überlaufflaschen aufbewahrt. Benutzt wurden Trichloressigsäure p. a. (Merck) und Salzsäure p. a. (rauchend, Merck) nach Redestillation.

3. Dithizon-Stammlösung

0,1 g Dithizon p. a. (Merck) werden in 150 ml CCl_4 (dithizongeprüft, Merck) in einem 200-ml-Scheidetrichter durch 10 Min. Schütteln gelöst; anschließend wird in einen 500 ml Scheidetrichter filtriert. Nun gibt man 100 ml 0,075N NH_4OH (ultrarein, Merck) hinzu und schüttelt 1 Min. Das jetzt in der wästr. Phase gelöste Ammoniumdithizonat wird gesammelt, die organische Phase noch zweimal mit jeweils 100 ml NH_4OH ausgeschüttelt. Die gesammelten wästr. Phasen werden dreimal mit je 2 ml CCl_4 gewaschen, um etwaige Verunreinigungen zu entfernen. Anschließend werden 200 ml CCl_4 hinzugegeben und mit 10 ml 1N H_2SO_4 p. a. (Merck) angesäuert. Das jetzt in der Tetrachlorkohlenstoffphase gelöste Dithizon wird gesammelt, die wästr. Phase verworfen. Diese Reinigung des Dithizons wird mehrfach durchgeführt und abschließend die Dithizon/ CCl_4 -Lösung mit 100 ml bidest. Wasser gewaschen. Darauf wird sie 1 Woche unter Lichtabschluß in die Kühltruhe gestellt und anschließend nochmals filtriert, um evtl. vorhandenes Wasser (Eis) oder ausgefallenes Dithizon zu entfernen. Die nun gebrauchsfertige Stammlösung wird unter Lichtabschluß in der Kühltruhe aufbewahrt und ist etwa 2 Jahre haltbar.

4. Dithizon-Gebrauchslösung

10 ml Stammlösung werden in einem 100-ml-Meßkolben mit 90 ml CCl_4 gemischt und in eine schwarz verkleidete Flasche gefüllt. Diese Lösung hält sich bei Aufbewahrung im Kühlschrank etwa 3 Wochen.

5. Tarn-Puffer-Gemisch

Der Tarnpuffer hat die Aufgabe, bei den gegebenen Bedingungen (pH, Maskierungsmittel) die Reaktion anderer Spurenelemente mit Dithizon zu verhindern. Erfahrungsgemäß hat sich für die Festlegung der notwendigen Verdünnung der Tarnpuffer-Substanzen der folgende Weg als am einfachsten erwiesen:

300 g Natriumacetat (ultrarein, Merck) werden mit bidest. Wasser zu etwa 650 ml gelöst und mit 2,5 ml Eisessig (ultrarein, Merck) versetzt, worauf sich pH 6,9—7,0 einstellt. 60 g Natriumthiosulfat (wasserhaltig, ultrarein, Merck) werden mit bidest. Wasser zu etwa 150 ml gelöst. Beide Lösungen werden vermischt. Diese Lösung wird nun solange mit bidest. Wasser verdünnt, bis sich bei der folgenden Probe pH 5 einstellt: 350 μl Tarnpuffer + 200 μl bidest. Wasser + 100 μl 1N HCl + 50 μl 3M Trichloressigsäure. 100 ml der so gewonnenen Lösung werden in eine zinkfreie Polyäthylenflasche gefüllt und mit 0,2 g KCN p. a. (dithizongeprüft, Merck) versetzt; diese gebrauchsfertige Lösung ist 4 Wochen haltbar.

6. Zink-Standardlösung

Zur Herstellung der Stammlösung wird ein gewogenes Zinkkorn (Zink, gekörnt, Merck) in mit Salzsäure p. a. angesäuertem bidest. Wasser gelöst und komplexometrisch mit Titriplex geprüft. Wir benutzen eine Stammlösung von 5000 $\mu\text{g}/100$ ml, aus der alle 3 Monate eine Standardlösung von 100 $\mu\text{g}/100$ ml hergestellt wurde.

Reinigung der Geräte

Die Kanülen werden $\frac{1}{2}$ Std. in bidest. Wasser gekocht und anschließend sterilisiert.

Die Polyäthylenröhrchen und Pipettenspitzen des Mikroprogramms der Fa. Netheler & Hinz haben sich als nicht genügend sauber erwiesen, auch wenn sie nach dem Verfahren gereinigt werden, das wir bei den Röhrchen für die Mikroisenbestimmung verwenden (4).

Wir verwenden daher folgendes Reinigungsverfahren: Etwa 400 Röhrchen werden in einem 4 l Schliffrundkolben mit 96proz. vergälltem Alkohol, in dem 2 Spatelspitzen Dithizon gelöst werden, 4 Stdn. am Rückflußkühler gekocht, nach Abkühlen dekantiert, mindestens dreimal mit Methanol p. a. gründlich ausgewaschen und darauf 1 Std. mit Methanol am Rückflußkühler gekocht. Dann

wird gründlich dekantiert und im Trockenschrank bei 40° getrocknet. Eine eventuell auftretende geringe Verfärbung der Röhrchen ist belanglos. Ebenso verfährt man mit den Spitzen und anderen Kunststoffgeräten.

Zinknachweis im Urin

Die Reinigung der Glasröhrchen und die Vorbereitung des Urins erfolgt genau wie bei der Mikromethode zur Eisenbestimmung (4). Man verfährt dann wie folgt: In je 2 graduierte Glasröhrchen (10 ml) werden je 1 ml bidest. Wasser bzw. Zinkstandard bzw. Urin gefüllt. Unter kurzem Umschütteln werden in jedes Röhrchen 200 μl H_2SO_4 konz. p. a. (Merck) gegeben, anschließend 200 μl Perchlorsäure p. a. 35proz. (Merck). Alle Röhrchen werden schräg in ein heißes Sandbad gesteckt, bis alles Wasser abgedampft ist, dann senkrecht tief vergraben. Es wird 3 Stdn. bei mäßigem Sieden verascht. Nach dem Abkühlen werden unter jeweils kurzem Umschütteln nacheinander folgende Reagenzien in der angegebenen Reihenfolge zugegeben:

1 ml bidest. Wasser

50 μl Bromkresolgrün-Lösung

tropfenweise NH_3 konz. (ultrarein Merck) bis zum Umschlag nach blau

200 μl Eisessig (ultrarein, Merck)

800 μl Tarnpuffergemisch

Die Lösung wird mit bidest. Wasser auf 3 ml ergänzt.

Von dieser aufgefüllten Lösung werden je 200 μl in Polyäthylenröhrchen pipettiert, 300 μl Dithizonlösung hinzugegeben. Es wird wie bei der Serumzinkbestimmung weiterverfahren.

Ergebnisse

Prüfung der Serumzink-Methode

Fehlerbreite der Faktorbestimmung

Wegen seiner Empfindlichkeit gegenüber Lichteinwirkung und Temperaturschwankungen stellt die verwandte Dithizonlösung keine über längere Zeit in ihrer Konzentration und Farbe konstante Lösung dar; ebenso ist der Gehalt des Tarnpuffers an KCN nicht konstant zu halten. Daher ist das Arbeiten mit einem einmal bestimmten Bestimmungsfaktor zur Bestimmung des Zinkgehaltes aus der Extinktion, wie es bei der Eisen- und Kupferbestimmung möglich ist, unzweckmäßig. Es muß vielmehr bei jeder Bestimmungsreihe der Faktor neu bestimmt werden. In diesen gehen alle Ungenauigkeiten der oben genannten Lösungen durch die Berücksichtigung der Leerwerte ein. Wir haben untersucht, wie weit trotz der in gewissem Maße immer erfolgenden Schwankung der Faktoren zwischen mehreren Meßreihen eine zuverlässige Zinkbestimmung möglich ist. In 6 Fällen wurden dabei nach der angegebenen Vorschrift Extinktionen von Leerwerten und jeweils 2 verschiedenen, gegebenen Standardlösungen bestimmt, mit jedem Standard ein Faktor errechnet und mit diesem Faktor die Konzentrationen des jeweils 2. Standards ausgerechnet. Das Ergebnis zeigt Tabelle 1. Es finden sich bei der Bestimmung Abweichungen vom bekannten Wert bis zu maximal 1,5%, im Durchschnitt von 1%.

Fehlerbreite bei Mehrfachbestimmungen im gleichen Serum

Es wurden 8 Bestimmungsreihen von je einem Standard 337,5 $\mu\text{g}/100$ ml, einem Serum, dem Serum + 84,5 $\mu\text{g}/100$ ml hinzugefügtem Zink, und dem Serum + 168,5 $\mu\text{g}/100$ ml Zink durchgeführt. Aus den 8 gewonnenen Bestimmungsfaktoren F wurde ein Durchschnittsfaktor ermittelt, und mit diesem die Zinkkonzentration errechnet. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2.

Tab. 1

Streuungsbreite der Zinkbestimmung in Abhängigkeit der jeweils errechneten Faktoren

Anmerkung: Spalte 2 gibt die gewählten Zinkstandardlösungen an (Konzentrationen in $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), die Spalten 3 und 4 die Extinktionen von Leerwert und Standardlösungen, die gemessen wurden, Spalte 5 den Betrag Extinktion Standardlösung — Extinktion Leerwert, mit dem der Faktor F berechnet wird. Dieser steht, aus dem Mittelwert dieser Beträge (Spalte 6) bestimmt, in Spalte 7. In Spalte 8 stehen die Konzentrationen (in $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), die für die gemessenen Extinktionen eines Standards mit Hilfe des mit dem anderen Standard ermittelten Faktors errechnet wurden, in Spalte 9 ist der dabei auftretende Fehler vermerkt

1 Vers. Nr.	2 Standard $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	3 Leerwert	4 Extinktionen Standard	5 Extinktionen bei 546 nm von Standard — Leerwert	6 Mittelwert	7 ergibt Faktor	8 damit errechnet sich 2. Standard ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	9 Fehler
I	337,5	0,246	0,839 0,847	0,593 0,601	597	566	333 337 = 335	- 1 %
	100,0	0,246	0,428 0,420	0,182 0,174	178	562	103 98,5 = 101	+ 1 %
II	337,5	0,156	0,752 0,782	0,596 0,626	611	552	333 349 = 341	+ 1 %
	100,0	0,156	0,331 0,339	0,175 0,183	179	559	96,5 101 = 99	- 1 %
III	337,5	0,178	0,740 0,770	\varnothing 0,592	592	571	332,5 332,5 = 332,5	- 1,5 %
	100,0	0,178	0,376 0,354	\varnothing 0,176	178	562	102,5 100,5 = 101,5	+ 1,5 %
IV	337,5	0,186	0,812 0,819	0,626 0,633	629	534	336 340 = 338	0 %
	100,0	0,186	0,813 0,375	0,627 0,189	186	537	337 101,5 = 100	0 %
V	337,5	0,076	0,675 0,670	0,599 0,594	596	566	338 336 = 337	0 %
	100,0	0,076	0,253 0,254	0,177 0,178	177	565	100 101 = 100	0 %
VI	100,0	0,069	0,253 0,251	0,177 0,182	180	566	100 100 = 99	- 1 %
	169,0	0,069	0,251 0,246 0,375 0,380 0,983	0,177 0,182 0,306 0,311 \varnothing	308	549	97 170 172,5 = 171	+ 1 %

Tab. 2

Streuungsbreite bei Mehrfachbestimmungen (s. Text)

Gegebene Lösung	dafür gefundenen Mittelwert ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	mit Standard- abweichung ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)
Standard 337,5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	337,5	$\pm 3,4$
Serum	134	4,3
dem Serum zugegebene Zink- menge 84,5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	81	2,6
dem Serum zugegebene Zink- menge 168,5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	167,8	3,5

Tab. 3

Streuungsbreite der Serumzinkbestimmung bei Verwendung von 0,1 ml Serum

Abweichung vom Mittelwert	Anzahl der untersuchten Seren	Prozentuale Häufigkeit
0— 5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	234	89,3 %
6—10 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	17	6,5 %
über 10 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	11	4,2 %

Tab. 4

Serumzinknormalwerte bei Kindern

Altersgruppe	n	\bar{x} ($\mu\text{g}/$ 100 ml)	$\pm s$ ($\mu\text{g}/$ 100 ml)	$\bar{x} \pm 2s$ ($\mu\text{g}/$ 100 ml)
Frühgeborene	13	115	22,45	70—160
Neugeborene	8	111	16,40	78—144
1—12 Monate	10	111	14,25	83—139
1—2,5 Jahre	9	112	15,23	82—142
2,5—5 Jahre	15	111	17,26	77—145
5—12 Jahre	22	114	18,27	78—150
über 12 Jahre	16	109	11,44	86—142

Differenz zwischen den Doppelbestimmungen

Bei einer Reihe von 100 Doppelbestimmungen ergab sich eine mittlere Differenz zwischen beiden Einzelbestimmungen von 3,5 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$. Tabelle 3 zeigt eine Aufstellung von 262 Doppelbestimmungen, gegliedert in 3 Gruppen nach der Streuungsbreite der Doppelbestimmungen. Die erste Spalte gibt die Abweichung der beiden Einzelwerte vom Mittelwert an, die zweite Spalte die absolute Häufigkeit der Ergebnisse in dieser Streuungsbreite, die dritte die relative Häufigkeit in Prozenten.

Bei den zuletzt genannten 11 Seren handelt es sich durchweg um durch Verunreinigungen unbrauchbare Bestimmungen; sie wurden wiederholt. Das Ausmaß der Differenz beider Einzelbestimmungen ist kein Gradmesser für die Genauigkeit einer Bestimmung. Von entscheidender Wichtigkeit ist die Kongruenz der Extinktionen bei Leerwert und Standard; wir machen deshalb von diesen jeweils Dreifachbestimmungen.

Normalwerte im Serum

Zur Bestimmung der Normalwerte wurden unausgelesene Fälle verschiedener Altersgruppen aus dem Krankengut unserer Klinik und Poliklinik herangezogen, soweit sie nicht an Krankheiten erkrankt waren, die

Tab. 5

Vergleich der Zinkausscheidung im Urin an verschiedenen Tagen

Patient	Datum	Urinmenge (ml)	Zn-Konz. ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)	Urin-Zn/24 Stdn. (μg)	Bemerkungen
Ott.	29. 9.	1110	87	965	aplast. Anämie, Hämosiderose Serum Zn um 150 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$
Ott.	30. 9.	1530	60,5	925	
Ott.	8. 11.	280	326	910	Fe-Mangelanämie
Zar.	—	970	74	720	
Uml.	—	840	41	488	

bekanntermaßen mit einer Veränderung des Serumzinkspiegels einhergehen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4.

Zinkgehalt im Urin

Es wurden 5 Doppelbestimmungen von 24-Stdn.-Sammelurinen gemacht. Das Ergebnis zeigt Tabelle 5.

Diskussion der Ergebnisse

Die allmähliche Alterung der Dithizongebrauchslösung bewirkt eine ständige Änderung der Extinktion dieser Lösung und damit auch des Leerwertes. Das macht die Benutzung eines einmal bestimmten Faktors F unmöglich. Trotzdem haben die jedesmal neu bestimmten Faktoren keine größere Fehlerbreite als im Durchschnitt 1%, wie Abbildung 1 zeigt. Mehrfachbestimmungen von Seren zeigen keine größeren Standardabweichungen als Messungen von eiweißfreien Standardlösungen (siehe Tab. 2). Dabei ist der „mittlere Fehler“ der ermittelten Mittelwerte nicht größer als maximal $1,5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Die mittlere Abweichung der Einzelbestimmungen vom Mittelwert bei unseren Routine-Doppelbestimmungen ist in fast 90% unter $5 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ und damit fast gleich den Ergebnissen bei der Mikroisenbestimmung (4).

Bei den Normalwerten findet sich ein durch alle Lebensalter konstant hoher Serum-Zinkspiegel. Dabei zeigt sich eine gute Übereinstimmung mit den bei Erwachsenen von VIKBLADH (5), BERFENSTAM (6), VALLEE (3, 7), WOLFF (8), PRASAD (9) und KAHN (10) gefundenen Werten. Als einziger untersuchte BERFENSTAM den Zinkspiegel auch bei Kindern. Er fand für Kinder ab 5 Jahren den unseren entsprechende Daten; bei zunehmend jüngeren Kindern fand er jedoch einen zunehmend höheren Zinkspiegel. Dabei fallen bei seinen Werten die sehr viel größeren Standardabweichungen auf (z. B. bei 16 Frühgeborenen $\bar{x} = 187 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $s = \pm 78 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$). Eine Ausnahme macht seine Angabe für Neu-

geborene, die der unseren fast gleich ($\bar{x} = 125 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, $s = \pm 33 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$). Vielleicht erklärt sich dieser Unterschied dadurch, daß BERFENSTAM seine relativ großen Blutmengen bei Säuglingen oft nur als Kapillarblut von der Ferse entnehmen konnte, während wir immer Venenblut benutzten. Bei Neugeborenen und Frühgeborenen entnahm BERFENSTAM ebenso wie wir Blut aus der Nabelschnur.

VALLEE berichtete, daß nur ein kleiner Teil des täglich ausgeschiedenen Zinks im Urin erscheine; dieser Anteil sei für das Individuum relativ konstant und von der Urinmenge unabhängig (3). Da alle Literaturangaben eine enorme Schwankungsbreite der Normalbereiche angeben, verzichteten wir auf eine Feststellung eines eigenen Mittelwertes und stellten nur stichprobenweise fest, daß unsere Werte innerhalb dieser Normalbereiche liegen. VALLEE (7) gab bei 14 untersuchten Gesunden einen Mittelwert von $457 \mu\text{g}/24 \text{ Stdn.}$ bei einer Standardabweichung von $s = \pm 120 \mu\text{g}$ an, KAHN (3) bestimmte mit der gleichen Methode als Werte $\bar{x} = 500 \mu\text{g}/24 \text{ Stdn.}$, $s = \pm 250 \mu\text{g}$, PRASAD (5) fand bei 9 Patienten einen Urinzinkgehalt von im Mittel $613 \mu\text{g}$ pro Tag mit $s = \pm 280 \mu\text{g}$.

Voraussetzung für die Erlangung guter Meßergebnisse ist die genaue Einhaltung der Reinigungsvorschriften für die Gefäße und Pipettenspitzen sowie der Lichtabschluß beim Arbeiten mit kleinen Mengen von Dithizongebrauchslösung. Bei Erfüllung dieser Bedingungen erweist sich diese Mikromethode als einfach und zuverlässig und ist ohne weiteres als Routinemethode zu verwenden. Das Überpipettieren der Zinkdithizonat/Tetrachlorkohlenstoffphase in die Mikroküvette macht dabei keinerlei Schwierigkeiten.

Wir danken Fr. B. KROHN und Fr. E. SCHLETT für technische Assistenz.

Literatur

1. NETH, R., H. SCHMALFUSS und D. GOSCHENHOFER, diese Z. 3, 61 (1965). — 2. IWANTSCHIEFF, G., Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikro- und Spurenanalyse. Verlag Chemie GmbH, Weinheim, Bergstraße (1958). — 3. VALLEE, B. L., *Physiol. Rev.* (Baltimore) 39, 443 (1959). — 4. NETH, R., K. H. SCHÄFER, D. GOSCHENHOFER und E. LAACK, *Klin. Wochenschr.* 41, 1089 (1963). — 5. VIKBLADH, I., *Scand. J. Clin. Laborat. Invest.* 2, 143 (1950). — 6. BERFENSTAM, R., *Acta paediatr. Suppl.* 87 (1952). — 7. VALLEE, B. L., W. E. C. WACKER, A. F. BARTHOLOMAY und F. L. HOCH, *Ann. Int. Med.* 50, 1077 (1959). — 8. WOLFF, H. P., *Klin. Wochenschr.* 34, 409 (1956). — 9. PRASAD, A. S., H. H. SANDSTEAD, A. R. SCHULERT und A. S. EL ROOBY, *J. Laborat. Clin. Med., S. Louis* 62, 591 (1963). — 10. KAHN, A. M., H. L. HELWIG, A. G. REDEKER und T. B. REYNOLDS, *Amer. J. Clin. Path.* 44, 426 (1965).

H. H. Hellwege
2000 Hamburg 20
Martinistr. 52