Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
10. Jg. 1972, S. 37—41

Über die Haltbarkeit von Plasmalipiden unter verschiedenen Lagerungsbedingungen

Von O. MÜHLEFELLNER, G. MÜHLEFELLNER, P. ZÖFEL und H. KAFFARNIK

Medizinische Poliklinik (damaliger Direktor: Professor Dr. G. W. Löhr¹⁾) der Universität Marburg

(Eingegangen am 3. Juli 1970/6. Oktober 1971)

Herrn Professor Dr. Hans Franke zum 60. Geburtstag gewidmet

Im Plasma von 36 Versuchspersonen untersuchten wir das Verhalten mehrerer Lipidfraktionen unter folgenden Lagerungsbedingungen: 3 Tage Raumtemperatur, 3 Tage +4°, 7 Tage +4°, 28 Tage -20° und 28 Tage -60°. Die Plasmaproben hatten bei der Verarbeitung eine Temperatur von +4°.

Bei den Fraktionen Phosphatide, Gesamt-Cholesterin und freies Cholesterin zeigten sich keine signifikanten Änderungen. Die Triglyceride waren nur nach 3 Tagen Raumtemperatur signifikant verändert (um etwa 7% erniedrigt). Dementsprechend stiegen die freien Fettsäuren nach 3tägiger Aufbewahrung bei Raumtemperatur um 218% an. Nach 7tägiger Aufbewahrung bei +4° kam es zu einem Anstieg der freien Fettsäuren um 43% des Ausgangswertes. Tiefgekühlte Proben zeigten bei -60° eine signifikante Verminderung um etwa 9%, bei -20° keine Unterschiede zum Sofortwert.

Kinetische Untersuchungen ergaben, daß die in vitro-Lipolyse bei Raumtemperatur 60 Stunden nach Blutentnahme beendet ist.

The stability of plasma lipids under various storage conditions

The behaviour of several lipid fractions in the plasma of 36 persons was investigated after storage of the plasma under the following conditions: 3 days at room temperature, 3 and 7 days at 4°, 28 days at -20° and 28 days at -60° resp. The temperature was kept at 4° during isolation of the lipid fractions.

The fractions of phospholipids, total cholesterol and free cholesterol did not show any significant changes after being stored under different conditions. Triglycerides decreased significantly after storage of the plasma for 3 days at room temperature. Free fatty acids increased by 218% after 3 days at room temperature. A 43% increase of free fatty acids was observed after storage of plasma for 7 days at 4°. A significant decrease of free fatty acids was found after storage at -40°. However, storage at -20° did not produce any apparent changes of free fatty acids.

Kinetic measurements demonstrated that in vitro lipolysis at room temperature was complete 60 hours after veni-puncture.

Die essentiellen und symptomatischen Hyperlipidämien sind wesentlich häufiger als ursprünglich angenommen. Daher gewann in den letzten Jahren die Bestimmung der Serum- bzw. Plasmalipide zunehmend an Bedeutung. Dem breiten Indikationsfeld von Untersuchungen der Blutfette stehen heute zahlreiche Methoden zur Analyse einzelner Lipidfraktionen gegenüber.

Trotz der Verbesserungen und Vereinfachungen, die Blutfettbestimmungen in der letzten Zeit erfahren haben, sind sie zum Teil auch heute noch aufwendig. Neben den erforderlichen Geräten ist zur Durchführung eines vollständigen Lipidstatus geschultes Personal notwendig. Daher müssen einzelne Lipiduntersuchungen (Triglyceride, freie Fettsäuren, elektrophoretische Methoden) zumeist noch größeren Laboratorien vorbehalten bleiben.

Dennoch besteht für den praktizierenden Arzt kein Grund, auf kompliziertere Untersuchungen der Plasmalipide zu verzichten. Es bietet sich die Möglichkeit an, Serum- bzw. Plasmaproben an größere Laboratorien zu verschicken.

Um die Kapazität eines Lipidlabors möglichst groß zu halten, ist es ratsam, wegen der zeitlichen Aufwendigkeit einzelner Methoden eine Anzahl von Proben zu sammeln und gemeinsam zu untersuchen. Voraussetzung für Verschickung und Lagerung von Blutproben ist die genaue Kenntnis der Stabilität der einzelnen Lipidfraktionen unter verschiedenen Lagerungsbedingungen. Auf diesem Sektor liegen bisher nur wenig Untersuchungen vor. Es sollte daher Aufgabe dieser Arbeit sein, unter verschiedenen Lagerungszeiten und -temperaturen das Verhalten der einzelnen Lipidfraktionen im Plasma zu überprüfen.

Material und Methoden

Versuchsanordnung

Untersuchte Lipidfraktionen

Im Plasma des venösen Blutes wurden die Triglyceride, die Phosphatide, das Gesamt-Cholesterin, das freie Cholesterin und die freien Fettsäuren untersucht.

Versuchspersonen

Untersucht wurden 30 Blutproben von 36 Personen verschiedenen Alters und Geschlechts. Es handelte sich sowohl um Gesunde als auch um Kranke unserer Ambulanz.

¹⁾ Jetzt Medizinische Univ.-Klinik Freiburg i. Br.

Blutentnahme

Die Entnahme des Blutes erfolgte aus den leicht gestauten Armvenen. Das Blut wurde in heparinisierten Röhrchen aufgefangen und sofort 5 Min. bei 4000 U/Min. zentrifugiert.

Versuchsbedingungen

Wir teilten jede Plasmaprobe in 6 Portionen. Die Lipide der ersten Portion wurden sofort bestimmt. Die übrigen Proben wurden vor der Verarbeitung unter folgenden Bedingungen gelagert: 3 Tage Raumtemperatur, 3 Tage +4°, 7 Tage +4°, 28 Tage -20°, 28 Tage -60°. Bei den bei -60° eingefrorenen Proben beschränkten wir uns auf die Bestimmung der freien Fettsäuren. Das Plasma hatte bei der Analyse eine Temperatur von +4°.

Zusätzlich führten wir eine kinetische Untersuchungsreihe der freien Fettsäuren durch. Hierzu wurden Plasmaproben von 5 Personen 96 Std. bei Raumtemperatur gelagert. Die freien Fettsäuren bestimmten wir sofort nach der Blutentnahme sowie 30 Min., 2 Std., 5 Std., 8 Std., 16 Std., 24 Std., 36 Std., 48 Std., 60 Std., 72 Std., 84 Std. und 96 Std. danach.

Spezielle Methodik

Extraktion der Lipide

Die Extraktion der Lipide aus dem Plasma zur Triglycerid- und Phosphatidbestimmung erfolgte nach der Methode von FOLCH und Mitarbeitern (1).

Triglyceride

Die Triglyceride wurden nach der Methode von VAN HANDEL und ZILVERSMIT (2) bestimmt. Das Prinzip dieser Methode besteht in einer Hydrolyse der Triglyceride, wobei das quantitativ freigesetzte Glycerin nach Oxydation kolorimetrisch gemessen wird (3). Vorher wurden die Phosphatide durch Adsorption an aktiviertes Kieselgel abgetrennt.

Phosphatide

Die Bestimmung der Phosphatide erfolgte über die Phosphoranalyse nach BARTLETT (4) mit der Veraschung nach ALLEN (5). Im FOLCH-Extrakt wurde der Lipidphosphor bestimmt und der Phosphatidgehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 25 errechnet (6).

Gesamt-Cholesterin

Zur Bestimmung des Gesamt-Cholesterins bedienten wir uns der Methode von WATSON (7) in der Modifikation nach RICHTERICH und LAUBER (8), die auf der Reaktion von LIEBERMANN und BURCHARD beruht.

Freies Cholesterin

Auch für die Bestimmung des freien Cholesterins verwendeten wir die Methode von WATSON (7), modifiziert nach HOEFLMAYR und FRIED (9). Der Nachweis des freien Cholesterins erfolgte nach Fällung mit Digitonin.

Freie Fettsäuren

Zur Analyse der freien Fettsäuren fand in leicht modifizierter Form (10) die Methode von DUNCOMBE (11) Anwendung. Die freien Fettsäuren wurden mit Chloroform als Kupfersalz extrahiert und anschließend das Kupfer mit Diäthyl-dithiocarbamat kolorimetrisch bestimmt.

Qualitätskontrollen

Es wurden grundsätzlich Doppelanalysen (bei den freien Fettsäuren Dreifachbestimmungen) nebeneinander mit der gleichen Methode vorgenommen (12, 13). Wir wiederholten die Bestimmungen, wenn die Werte nicht entsprechend übereinstimmten. Zur Ermittlung unserer Fehlerbreite setzten wir 11 Parallelbe-

stimmungen im gleichen Plasma an. Wir fanden folgende prozentuale Streuungen:

Triglyceride	± 4%
Phosphatide	± 4%
Gesamt-Cholesterin	± 5%
Freies Cholesterin	± 18%
Freie Fettsäuren	± 4%.

In jeder Serie führten wir einen Standard mit. Die Präzision der Methoden wurde von Tag zu Tag verglichen (14).

Statistik

Zur Prüfung der Veränderung der Ausgangswerte (Sofortwerte) durch die verschiedenen Lagerungsbedingungen wurde der t-Test für abhängige Stichproben verwendet (15). Hierbei werden jeweils die beiden zu einer Versuchsperson gehörigen Meßwerte einander zugeordnet und ihre Differenz gebildet. Auf diese Weise wurden die starken Schwankungen in den Ausgangswerten kompensiert. Der t-Test war anwendbar, da die Verteilung der gebildeten Differenzen nicht wesentlich von einer Normalverteilung abweicht.

Der t-Test liefert die Irrtumswahrscheinlichkeit dafür, daß die Veränderung der Ausgangswerte durch die verschiedenen Lagerungsbedingungen nicht zufällig ist. Signifikante Veränderungen liegen vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit nicht größer als 5% ist ($\alpha \leq 5$). Ist $\alpha > 5$, dann können signifikante Unterschiede nicht nachgewiesen werden.

Zur statistischen Sicherung des Anstiegs der freien Fettsäuren während der kinetischen Untersuchung wurde der FRIEDMAN-Test angewendet (15). Dieser Test dient zum Vergleich der Mittelwerte von mehr als zwei abhängigen Stichproben. Auch hier liegt Signifikanz vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5% ist.

Ist ein Unterschied nicht nachzuweisen, so bedeutet das natürlich nicht, daß tatsächlich kein Unterschied besteht. Die Wahrscheinlichkeit, bestehende Unterschiede nicht zu erkennen, ist desto kleiner, je größer die Irrtumswahrscheinlichkeit α ist.

Ergebnisse

Signifikante Änderungen der Plasmalipide zeigten sich unter den verschiedenen Lagerungsbedingungen bei den Triglyceriden und den freien Fettsäuren (Tab. 2).

Der Mittelwert der Triglyceride betrug bei der Sofortbestimmung $1,780 \pm 1,150$ g/l (Tab. 1). Nach 3-tägiger

Tab. 1
Ausgangswerte (Sofortwerte) mehrerer Lipidfraktionen des Plasmas

Triglyceride [g/l]	$\bar{x}$	1,780
	s	1,150
	n	33
Phosphatide [g/l]	$\bar{x}$	2,330
	s	0,520
	n	33
Gesamt-Cholesterin [g/l]	$\bar{x}$	2,860
	s	0,960
	n	33
Freies Cholesterin [g/l]	$\bar{x}$	0,670
	s	0,160
	n	33
Freie Fettsäuren [mMol/l]	$\bar{x}$	0,288
	s	0,142
	n	36

Die zum Teil hohen Standardabweichungen resultieren aus der Verwendung von Plasmaproben bei Gesunden und Kranken

Lagerung bei Raumtemperatur kam es zu einem signifikanten Abfall um $-6,7\%$ ($\alpha = 4,3$). Die bei $+4^\circ$ aufbewahrten Proben ließen nach 3 Tagen und nach 7 Tagen keine signifikanten Änderungen erkennen. Auch nach einer 28tägigen Aufbewahrung bei -20° konnten gegenüber dem Sofortwert keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden (Tab. 2).

Die Phosphatide ergaben bei der Sofortbestimmung einen Mittelwert von $2,330 \pm 0,520$ g/l (Tab. 1). Im Laufe der Untersuchung schwankten die Unterschiede zwischen $+5,5$ und $-0,8\%$ (Tab. 2).

Beim Gesamt-Cholesterin fand sich in der Sofortbestimmung ein Mittelwert von $2,860 \pm 0,960$ g/l (Tab. 1).

Tab. 2

Prozentuale Veränderungen des Ausgangswertes (Sofortwertes) des Plasmas unter den verschiedenen Lagerungsbedingungen (n = 30)

		3 Tage Raum- temperatur	3 Tage +4°	7 Tage +4°	28 Tage -20°	28 Tage -60°
Triglyceride	$\bar{x}$	-6,7	+1,8	+3,2	+2,1	—
	s	15,2	14,6	13,1	14,4	—
	α	4,3	15,3	15,2	38,3	—
Phosphatide	$\bar{x}$	-0,8	+4,3	+5,5	+1,8	—
	s	16,7	16,5	14,2	13,2	—
	α	90,4	20,2	5,9	49,8	—
Gesamt-Cholesterin	$\bar{x}$	-1,4	-1,5	+2,7	-4,3	—
	s	10,7	11,3	12,7	14,7	—
	α	15,0	20,4	62,0	6,8	—
Freies Cholesterin	$\bar{x}$	-6,4	+6,8	+7,6	+11,1	—
	s	25,1	25,5	49,7	32,7	—
	α	9,5	30,7	83,4	16,8	—
Freie Fettsäuren	$\bar{x}$	+218,1	+10,8	+43,4	+2,9	-9,2
	s	179,1	36,1	47,6	28,8	21,3
	α	0,0	36,1	0,0	93,7	0,2

α Signifikanzniveau der prozentualen Veränderung (signifikante Änderungen bei $\alpha \leq 5\%$)

In der Statistik wurde der t-Test für abhängige Stichproben durchgeführt. Daher mußten Versuchspersonen, bei denen korrespondierende Werte fehlten, unberücksichtigt bleiben. Aus diesem Grunde stimmt auch die Anzahl der Ausgangswerte mit den später gewonnenen Werten nicht ganz überein

Hier lagen später die nicht signifikanten Unterschiede zwischen $+2,7$ und $-4,3\%$ (Tab. 2).

Der Mittelwert der Sofortbestimmung betrug beim freien Cholesterin $0,670 \pm 0,160$ g/l (Tab. 2). In der Folgezeit schwankten die Abweichungen zwischen $+11,1$ und $-6,4\%$. Eine statistische Sicherung der Differenzen gelang nicht. Die α -Werte lagen zwischen 9,5 und 83,4 (Tab. 2).

Die freien Fettsäuren ergaben einen Sofortwert von $0,288 \pm 0,142$ mMol/l (Tab. 2). Nach 3tägiger Lagerung des Plasmas bei Raumtemperatur kam es zu einer signifikanten Erhöhung der freien Fettsäuren um 218%. Während nach 3tägiger Aufbewahrung bei $+4^\circ$ mit $+10,8\%$ eine geringe, jedoch nicht signifikante Erhöhung der freien Fettsäuren zu verzeichnen war ($\alpha = 36,1$), ergab die Untersuchung nach 7tägiger Lagerung unter den gleichen Bedingungen mit einer Zunahme von 43,4% eine eindeutige Signifikanz ($\alpha = 0,0$). Bei -20° aufbewahrt ergaben sich nach

28 Tagen keine signifikanten Unterschiede zum Sofortwert. Die bei -60° eingefrorenen Plasmaproben hingegen zeigten eine signifikante Verminderung um 9,2% des Ausgangswertes ($\alpha = 0,2$) (Tab. 2).

Die zur Analyse der freien Fettsäuren unter Raumtemperatur gelagerten Plasmaproben ergaben bei einem Ausgangsmittelwert von $0,277 \pm 0,158$ mMol/l einen kontinuierlichen Anstieg auf maximal $0,972 \pm 0,165$ mMol/l nach 84 Stdn. (Abb. 1). Dieser Anstieg

Abb. 1

Anstieg der freien Fettsäuren während der kinetischen Untersuchung bei Raumtemperatur (n = 5)

Beim Vergleich sämtlicher Werte wurde der FRIEDMAN-Test angewendet ($\alpha = 0,00$). Außerdem prüften wir mit dem t-Test für abhängige Stichproben das Verhalten von je zwei aufeinanderfolgenden Werten. Hierbei zeigten sich ab der 60. Stunde keine Signifikanzen mehr

war hochsignifikant ($\alpha = 0,00$). Nicht mehr signifikant waren die Änderungen von der 60. Stunde an aufwärts.

Diskussion

Aus der Literatur kennen wir nur wenige Untersuchungen über das Verhalten der Blutlipide unter verschiedenen Lagerungsbedingungen.

Signifikante Änderungen des Phosphatidgehaltes fanden wir weder nach 3tägiger Lagerung bei Raumtemperatur noch bei 3- bzw. 7tägiger Aufbewahrung bei $+4^\circ$. Tiefgekühlt bei -20° konnten wir auch nach 4 Wochen keine signifikante Änderung dieser Lipidfraktion nachweisen.

Über das Verhalten der Cholesterine unter verschiedenen Lagerungsbedingungen wurden von mehreren Autorengruppen Untersuchungen vorgelegt. WALFORD und Mitarbeiter (16) fanden nach 6 Monaten in bei -10° aufbewahrt Plasma keine Veränderungen des Cholesteringehaltes. WAGNER und Mitarbeiter (17) inkubierten Serum bei $+37^\circ$ und stellten nach 72 Stdn. einen durchschnittlichen Abfall des freien Cholesterins von 41 auf 15 mg/100 ml fest. HOEFLMAYER (18) untersuchte 10 bei $+4^\circ$, bei $+20^\circ$ und bei $+37^\circ$ gelagerte

Seren. Im ersten Fall kam es nach 2 Tagen zu einem Abfall des Gesamt-Cholesterins um etwa 15%, im zweiten Fall nach 5 Tagen um 5%. Die bei +37° gelagerten Proben ergaben eigenartigerweise einen Anstieg des Gesamt-Cholesterins um 30% des Ausgangswertes.

In Übereinstimmung mit WALFORD und Mitarbeitern (16) fanden wir, daß in eingefrorenen Plasmaproben keine signifikanten Veränderungen des Gesamt-Cholesteringehaltes eintreten. Während WAGNER und Mitarbeiter (17) unter 3tägiger Inkubation bei +37° einen Abfall des freien Cholesterins feststellten, trat bei uns unter Aufbewahrung bei Raumtemperatur nach der gleichen Zeit ein signifikanter Abfall nicht auf.

Wir konnten auch nicht den von HOEFLMAYR (18) bei +4° beschriebenen Abfall beobachten.

Trotz z. T. nicht geringer prozentualer Abweichungen der Mittelwerte ließen sich bei freiem Cholesterin keine Signifikanzen sichern. Den Grund sehen wir in den hohen Streuungen. Auch bei den Qualitätskontrollen zeigte die Methodik bei freiem Cholesterin die höchste Fehlerbreite.

Die Triglyceride waren unter einer Lagerungsbedingung verändert: Nach 3tägiger Aufbewahrung unter Raumtemperatur kam es zu einem signifikanten Abfall. Dieser Befund ist verständlich, wenn man das Verhalten der freien Fettsäuren betrachtet. VON ELMENDORFF und VALLÉE (19) fanden in Blutkonserven einen erheblichen Anstieg der freien Fettsäuren im Verlauf einer 3–4wöchigen Lagerung bei +4°. Wir konnten feststellen, daß dieser Anstieg signifikant erst in der Spanne zwischen dem 3. und 7. Tag einsetzt. Allerdings sind die freien Fettsäuren auch nach einer 3tägigen Lagerung bei +4° gegenüber dem Ausgangswert erhöht. Hierbei gelang eine statistische Sicherung jedoch nicht. Unsere Ergebnisse stimmen überein mit der Beobachtung von GORDON (20), der nach 5tägiger Aufbewahrung von Plasmaproben bei +4° keine zuverlässigen Meßergebnisse der freien Fettsäuren mehr erhielt. 4 Stdn. nach Blutentnahme weist kalt aufbewahrtes Plasma keine signifikanten Unterschiede im Gehalt der freien Fettsäuren auf (21).

GORDON (20) stellte ferner fest, daß bei –20° eingefrorenes Plasma nach 5 Tagen keine Erhöhung der freien Fettsäuren zeigt. Seine Untersuchungen dehnten wir auf 4 Wochen aus mit dem Ergebnis, daß auch in dieser Zeit keine signifikante Änderung im Gehalt der freien Fettsäuren gegenüber dem Sofortwert auftritt.

Nach einer 28tägigen Lagerung bei –60° hingegen waren die freien Fettsäuren signifikant vermindert. Für dieses außerordentlich interessante Ergebnis bietet sich folgende Erklärung an: Unmittelbar nach beendeter Zentrifugation wurden die Plasmaproben tiefgekühlt. Bei –20° dauert der Einfrierungsprozeß länger als bei –60°. Die Lipolyse wird bei –60° rascher gestoppt, die Werte liegen niedriger. Die Sofortbestimmungen wurden zwar ohne Verzögerungen im Anschluß an die Zentrifugierung durchgeführt. Um die Einheitlichkeit

der Versuchsanordnung zu gewährleisten, mußte das Plasma auf +4° abgekühlt werden. In diesem Zeitraum scheint die gleiche Lipolyse stattzufinden, wie sie während des Einfrierens bei –20° auftritt.

Der Abfall der Triglyceride nach 3 Tagen Raumtemperatur entspricht dem lipolytisch bedingten Anstieg der freien Fettsäuren unter den gleichen Bedingungen.

DOLE (22) inkubierte Plasma bei +37° und registrierte einen stündlichen Anstieg der freien Fettsäuren von etwa 35 μ Mol. Einen Anstieg der freien Fettsäuren bei Raumtemperatur teilten auch WEIGEL und Mitarbeiter (23) mit. MUNKNER (24) beobachtete nach 24 Stunden bei Raumtemperatur einen Anstieg der freien Fettsäuren um 40%. GROSSMAN und Mitarbeiter (25) sahen im Plasma von Ratten nach 4 Stdn. bei +4° ähnlich wie GORDON u. CHERKES (21) keine Änderung der freien Fettsäuren, nach 24 Stdn. unter den gleichen Bedingungen sowie nach 4 Stdn. bei Raumtemperatur deutliche Anstiege.

Wir fanden bei der kinetischen Untersuchungsreihe eine signifikante Zunahme der freien Fettsäuren bis zur 60. Stunde um ein Mehrfaches der Ausgangswerte. Nach 21½ Tagen kam es zu keinem wesentlichen Anstieg dieser Lipidfraktion mehr. Nach dieser Zeit ist also die in vitro-Lipolyse beendet.

Aus unseren Untersuchungen ergeben sich Richtlinien zur Verschickung und Lagerung von Plasmaproben, bei denen Lipiduntersuchungen durchgeführt werden sollen.

Werden Bestimmungen von Triglyceriden, Phosphatiden oder Cholesterinen gewünscht, so scheint es keine Rolle zu spielen, ob die Plasmaproben sofort nach Entnahme oder erst einige Tage nach Lagerung im Kühlschrank untersucht werden. Muß Plasma verschickt werden, dann ist für wissenschaftliche Zwecke eine Untersuchung der Triglyceride nicht zu empfehlen, es sei denn, die Proben werden während der Verschickung gekühlt. Für Routinebestimmungen kann man den geringen, statistisch jedoch signifikanten Abfall nach 3 Tagen Raumtemperatur bei den Triglyceriden vernachlässigen. Im Kühlschrank aufbewahrt ist auch nach 1 Woche, tiefgekühlt nach 4 Wochen mit keiner Änderung in der Konzentration der genannten Lipide zu rechnen.

Die freien Fettsäuren müssen nach der Blutentnahme und Zentrifugierung ohne Verzögerung untersucht oder für wissenschaftliche Zwecke bei –60° gelagert werden. Stehen nur Kühltruhen mit höheren Temperaturen zur Verfügung, dann sollten die Plasmaproben zur Beschleunigung des Einfrierungsprozesses bei tieferen Temperaturen schnellgefroren werden. Bereits in dem Zeitraum bis zur Abkühlung auf +4° scheint ebenso wie beim Einfrieren bei –20° eine geringe Lipolyse einzutreten, die durch schnelleres Einfrieren verhindert werden kann. Für die Routinediagnostik ist eine Lagerung bei –20° ohne Schnellfrieren ausreichend.

Auch die kleinste Bestellung wird von uns wie ein großer Auftrag behandelt.

Eine Ratte – drei Tage schwanger.

Eine männliche Maus – 18-20 gr. schwer.

Oder irgendeine Maus oder Ratte nach Ihren speziellen Wünschen.

Wir sind für jede Bestellung dankbar, egal ob sie groß oder klein ist. Dafür liefern wir Ihnen die besten Versuchstiere, die Sie kaufen können. Diese Tiere werden unter denselben gewissenhaften Bedingungen gezüchtet, die von den Charles River Laboratories in ganz Nord-Amerika gestellt werden.

Da dies die besten und gesündesten Tiere sind, die zur Verfügung stehen, benötigen sie keine besonderen Behausungen, um einheitlichere Forschungsergebnisse zu erzielen. Das bedeutet, dass die Auswertung der wissenschaftlichen Fakten äußerst präzise ist. Was wollen Sie mehr?

Die Arche Noah nahm immer nur zwei Tiere auf. Wir verschicken unsere Versuchstiere auch einzeln – oder soviele wie Sie wollen. Ein Anruf genügt:
(35) 77 18 87.

Charles River FROM THE HAND OF THE VETERINARIAN TO RESEARCH
St. Aubin-les-Elbeuf / France S.A.

ACTA BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

Zeitschrift der Ungarischen Akademie der Wissenschaften

VOLUME 6

NUMBER 2

Contents

- GY. BOT, I. DÓSA: The Influence of Effectors Modifying Phosphorylase- α in the Phosphorylase Phosphatase Reaction
- I. FERENCZ, V. CSÁNYI, I. MILE: The Effect of Substrate Analogues on the Iodine Sensitivity of Penicillinase from *B. cereus*
- O. DOBOZY, I. MILE, I. FERENCZ, V. CSÁNYI: Effect of Electrolytes on the Activity and Iodine Sensitivity of Penicillinase from *B. cereus*
- G. ELEK, T. KELETI: The Effect of a Paramagnetic Center of 2.03 Average g -Value on d-Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
- S. FERENCZI, J. BÁTI, T. DÉVÉNYI: Thin Layer Ion Exchange Chromatography on Resin-Coated Chromatoplates. III. Testing of Methionine and Lysine in Plant Seeds
- T. DÉVÉNYI: Amino Acid Analyzer Programming for the Rapid Determination of Methionine and Lysine (Short Communication)
- T. DÉVÉNYI, J. BÁTI, F. FÁBIÁN: Detection and Determination of Tryptophan by Ion Exchange Chromatography
- J. MENYHÁRT, Á. HORVÁTH, A. ROSTA: A Reliable Index of Tissue Metabolic Activity during the Initial Phase of Rat Liver Regeneration
- J. MENYHÁRT, Á. HORVÁTH, A. ROSTA: Urea Production by Rat Liver Slices at Various Urea Concentrations in the Medium. (Short Communication)
- T. TOMCSÁNYI, A. TIGYI: Informomer-like Protein in Polyribosomes (Preliminary Communication)
- Á. FURKA: Group Separation: A New Method Facilitating Isolation of Peptides from Digests of High Molecular Weight Proteins (Preliminary Communication)
- G. RISCHÁK, G. LÉNÁRT, J. PINTÉR: Comparative Crystallographic Analysis of Different Bones with X-ray Diffractometry
- E. ERNST, ST. JURICKAY: Discrimination of Isotopes by Living Systems. IV. Stimulusthreshold of Sartorius Muscles in 39KCL and 41KCL
- GY. TAMÁS, I. TARJÁN, M. SZÖGYI: Effect of Antibiotics on the Ion-exchange of Bacteria
- P. VARGA-MÁNYI: Effect of Trace Elements (Cu, Co, Mn and Zn) on Excitatory Processes (Preliminary Communication)

BOOK REVIEWS

ACTA BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA erscheint vierteljährlich in Heften zu einem Band von etwa 400–500 Seiten. Format: 17 × 25 cm.

Abonnementspreis pro Band: \$ 16.00; DM 64,—

Vertrieb: KULTURA, Budapest 62, Postfach 149

Auslieferung für das Gebiet der Deutschen Bundesrepublik: KUNST UND WISSEN Erich Bieber, Stuttgart S., Wilhelmstraße 4

AKADÉMIAI KIADÓ, Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften Budapest 502, Postfach 24

Literatur

1. FOLCH, J., M. LEES und D. H. SLOANE-STANLEY, J. biol. Chemistry 226, 497 (1957). — 2. HANDEL, VAN E. und D. E. ZILVERSMIT, J. Laborat. Clin. Med., S. Louis 50, 152 (1957). — 3. SCHMIDT, F. H., Methoden der Plasmalipidanalyse: Cholesterin und Triglyceride in: Methoden und Bedeutung der Plasmalipidanalyse. Symposion Wien 1969. Verlag der Wiener Medizinischen Akademie. — 4. BARTLETT, G. R., J. biol. Chemistry 234, 466 (1959). — 5. ALLEN, R. J. L., Biochem. J. 34, 858 (1940). — 6. ZÖLLNER, N. und K. KIRSCH, Z. exper. Med. 134, 1028 (1960). — 7. WATSON, D., Clin. Chim. Acta, Amsterdam 5, 637 (1960). — 8. RICHTERICH, R. und K. LAUBER, Klin. Wschr. 40, 1252 (1962). — 9. HOEFLMAYR, J. und R. FRIED, Med. Welt 38, 2015 (1964). — 10. DIETERLE, P. H., C. WÜLFERT-HELDRIICH, J. HENNER und K. SCHWARZ, diese Z. 6, 153 (1968). — 11. DUNCOMBE, W. G., Clin. Chim. Acta, Amsterdam 9, 122 (1964). — 12. GEBELEIN, H. und H.-J. HEITE, Ärztl. Forschg., Wörishofen 4, 291 (1950). — 13. BÜTTNER, H., diese Z. 5, 41 (1967). — 14. STAMM, D. und H. BÜTTNER, diese Z. 7, 393 (1969). — 15. KREYSZIG, E., Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen (1965). — 16. WALFORD, L., M. SOWA und D. DALEY, Amer. J. Clin. Path. 26, 376 (1956). — 17. WAGNER, A., M. BIRKEMEYER und J. WEINSTOCK, Circulation Res. 3, 165 (1955). — 18. HOEFLMAYR, J., Ärztl. Praxis 26, 1604 (1963). — 19. ELMENDORFF, VON H. und D. VALLÉE, Blut 10, 61 (1964). — 20. GORDON, R. S. jr., J. clin. Invest. 36, 810 (1957). — 21. GORDON, R. S. jr. und A. CHERKES, J. clin. Invest. 35, 206 (1956). — 22. DOLE, V. P., J. clin. Invest. 35, 150 (1956). — 23. WEIGEL, W., A. KRAUTWALD und H. LINKE, Acta biol. med. german. 2, 341 (1959). — 24. MUNKNER, C., Scand. J. clin. Laborat. Invest. 11, 388 (1959). — 25. GROSSMAN, M. I., L. PALM, G. H. BECKER und H. C. MOELLER, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y. 87, 312 (1954).

Dr. O. Mühlfellner
Prof. Dr. H. Kaffarnik
Medizinische Poliklinik der Universität Marburg
Robert-Koch-Str. 7a

P. ZÖFEL
Zentrale Rechenanlage der Universität Marburg
Alte Kasseler Str. 4