Mikrokupfer – Eigenschaften und Effekte

Autoren:

Prof. Dr. Manfred Sietz, Ing. Christian Rikus *

* Hochschule OWL, FB 8, An der Wilhelmshöhe 44, 37671 Höxter

Stichworte:

Mikrokupfer, Eigenschaften, Toxikologie, Physiologie, Kupfer im menschlichen Organismus, Kupfermangel, Kupfervergiftung, Biochemische Eigenschaften, Antibakterielle Eigenschaften, Mikrobiologie

Einleitung

Kupfer ist ein chemisches Element und neben Gold, Silber und Zinn eines der Metalle, das von den Menschen schon im frühen Altertum verwendet wurde. Kupfer und Gold sind zudem die einzigen farbigen metallischen Elemente. Kupfer wurde im Altertum in reiner Form (z.B. für Münzen, als Schmuck oder als Spiegel) und später auch in Legierungen wie Messing und Bronze genutzt. Der lateinische Name *cuprum* ist abgeleitet von *aes cyprium* „Erz von der Insel Zypern“, auf der im Altertum Kupfer gewonnen wurde [1]. Heute wird Kupfer wegen seiner vielfältigen Materialeigenschaften in der Industrie verwendet. Es kommt zum Beispiel in Brauereien als Braukessel, in der Telekommunikation, aber auch für Rohrleitungen in Hausinstallationen wie beispielsweise Heizungen, Gasleitungen und Solartechnik zum Einsatz. Hinzu kommt, dass Kupfer als Spurenelement für das Leben unverzichtbar ist [3].

Eigenschaften von elementaren Kupfer

Tabelle 1 zeigt die umwelttechnischen Eigenschaften von Kupfer. Bei Raumtemperatur ist Kupfer als rötlich, metallisch glänzender Feststoff gut erkennbar.

Tabelle 1: Umwelttechnische Eigenschaften Kupfer [2]

Ordnungszahl	29	**Atomradius (van der Waals)**	0,128 nm
Molmasse	63,55 g mol^{-1}	**Ionenradius**	0,096 nm (+1) 0,069 nm (+3)
Elektronegativität nach Pauling	1,9	**Isotope**	2
Dichte bei 20°C	8,95 g cm^{-3}	**Elektronenkonfiguration**	[Ar] $3d^{10}4s^{1}$
Schmelzpunkt	1083 °C	**Ionisierungsenergie des 1 Elektrons**	743,5 kJ mol^{-1}
Siedepunkt	2595 °C	**Ionisierungsenergie des 2 Elektrons**	1946 kJ mol^{-1}
Standardpotential	+ 0,522 V (Cu^{+} / Cu) + 0,345 V (Cu^{2+} / Cu)		

Kupfer als Metall zeichnet sich zusammengefasst durch folgende „besondere“ Eigenschaften aus [3]:

- UV-Beständig
- Diffusionsdicht
- Gute Verarbeitungs – und Verbindungsmöglichkeiten
- Hohe Korrosionsbeständigkeit
- Hohe Leitfähigkeit
- Essentielles Spurenelement

Chemische Eigenschaften

Kupfer kann in den Oxidationsstufen 0, +1, +2, +3 und +4 auftreten. Am häufigsten findet man Kupfer in den Oxidationsstufen +1 und +2. Kupfer (II)-Salze wie Kupfersulfat liegen meistens in den Farben „Blau“ und „Grün“ vor. Die chemischen Eigenschaften von Kupfer ähneln den chemischen Eigenschaften der Elemente Gold und Silber. Kupfer ist in Anwesenheit von Laugen sehr stabil, während es von organischen Säuren wie der Salpeter - oder Schwefelsäure angegriffen und zersetzt wird. Kupfer wird von Fluor und seinen Verbindungen passiviert. Gegen saubere Luft und Wasser ist es beständig [4].

Bei Kupferatomen befinden sich die negativ geladenen Elektronen in den vollständig gefüllten Orbitalen wesentlich näher am Atomkern als die negativ geladenen Elektronen in den nicht vollständig gefüllten Orbitalen. Somit stellen die komplett gefüllten Orbitalen einen energetisch niedrigen Zustand dar [31].

Effekte von elementaren Kupfer auf Natur/Umwelt/Pflanzen/Tiere

Es gibt keine natürlichen Prozesse, bei denen Kupfer in der Natur oxidativ zersetzt wird. Deshalb führt die Verwendung kupferhaltiger Produkte zu einer Erhöhung des Kupfergehalts der Umwelt. Flüsse lagern beispielsweise mit Kupfer kontaminierten Schlamm an ihren Ufern ab, was auf die Einleitung von kupferhaltigen Abwässern zurückzuführen ist [2].
Die Verbrennung von fossilen Brennstoffen führt dazu, dass Kupferstäube in die Atmosphäre emittiert werden, wo das Kupfer solange verbleibt, bis es mit den Niederschlägen in den Boden gelangt und sich dort ebenfalls anreichern kann. Aber auch natürliche Prozesse wie beispielsweise Winderosion, verfaulende Vegetation, Waldbrände und die Gischt des Meeres tragen zur Verbreitung von Kupfer bei [2].

Kupfer ist im Boden immobil. Die Löslichkeit von Kupfer ist bei einem pH-Wert von 5-6 am geringsten. Kupfer und seine Verbindungen sammeln sich vor allem in den oberen Bodenschichten an, wo es an anorganisches und organisches Material gebunden ist. Der Kupfergehalt in normalen lufttrockenen Böden beträgt durchschnittlich circa 10-20 ppm, wobei eine Spannweite von etwa 1-80 ppm zu finden ist. In kontaminierten Böden können Kupferkonzentrationen von bis zu 3500 ppm auftreten [5].

Umwelt-, Reaktions- und Gesundheitseffekte

Kupfer wird aufgrund fehlender Abbaupfade durch menschliche und natürliche Prozesse in Pflanzen und Tieren angereichert. Lediglich eine geringe Zahl von Pflanzenarten kann auf stark kupferhaltigen Böden gedeihen, weshalb z.B. in der Umgebung von „Kupferemittenten“ meist eine artenarme, spezialisierte Flora vorherrscht [2].

Hohe Kupfergehalte im Boden können die landwirtschaftliche Produktion gefährden. Der Einfluss des Kupfers auf landwirtschaftlich genutzte Böden hängt aber auch von anderen Faktoren, wie etwa vom pH-Wert und dem Vorhandensein von organischem Material, ab [2].

Mangelerscheinungen bei Pflanzen treten normalerweise bei Konzentrationen von weniger als 5 ppm auf. Krautpflanzen und Baumblätter enthalten normalerweise circa 2-20 ppm Kupfer (bezogen auf die Trockenmasse). Ein Kupfermangel kann bei Konzentrationen von unter 3 ppm vermutet werden.

Auffallend ist, dass im Vergleich den oberirdischen Pflanzenteilen in den Wurzeln die größten Kupferkonzentrationen zu finden sind. Zudem enthalten junge Pflanzen mehr Kupfer als ältere. In Flechten sind meist etwa 9-24 ppm und in Pilzen etwa 7-160 ppm des Elements zu finden [5].

„Die physiologische Bedeutung des zumeist enzymatisch gebundenen Kupfer liegt im Redoxpotential. Zweiwertige Cu-Ionen werden leicht zu instabilen, einwertigen Ionen reduziert. Aufgrund der hohen Affinität gegenüber Sulfhydrylgruppen cysteinreicher Proteine sowie zu Carboxyl- und Phenolgruppen liegt Cu zumeist komplexiert vor und die Konzentration an freien Cu-Ionen im Zytoplasma und in Organellen ist sehr gering“ [7].

Kupfermangel beeinflusst die Samenreifung und Fruchtbildung stärker als das vegetative Wachstum. Die Toxizität von Kupferkonzentrationen ist von Pflanze zu Pflanze unterschiedlich, da jeder Organismus eine genetisch festgelegte Reaktionsbreite gegenüber Umweltfaktoren hat. „Sobald eine kritische Konzentration erreicht, bzw. überschritten wird, kann dies zu komplexen Änderungen im Stoffwechsel führen. Ausschlaggebend sind weiterhin die Verfügbarkeit sowie die Dauer und Art der Applikation“ [7].

Cu^{2+}-Ionen sind vor allem für viele Kleinorganismen, wie Bakterien, Pilze und Algen sehr giftig. Treten Schäden bei höheren Pflanzen auf, so äußern sich diese in vermindertem Wurzelwachstum und Chlorose. Pflanzen verfügen jedoch über Regulationsmechanismen, und auch eine genetische Toleranzbildung ist möglich.

Gelöste Kupfersalze gelten als stark gewässerschädigend, da sie giftig für Bakterien und Algen, aber auch für Krebse und Fische sind. Bei Fischen reichert sich Kupfer vor allem in der Leber an. Austern nehmen ebenfalls Kupfer auf, wobei die Kupferaufnahme bei Anwesenheit von organischen Komplexbildnern im Vergleich zur Abwesenheit dieser Stoffe wesentlich geringer ist. Süßwasserfische und Kleinkrebse tolerieren im Allgemeinen etwa 30-800 ppb Kupfer. Während der Gehalt in Süßwasseralgen normalerweise bei 1,5-6 ppm liegt, kann die Süßwasserpflanze Ascophyllum sogar über 100 ppm Kupfer anreichern. Kupfer ist auch für einige Wasserlebewesen essentiell. Dies gilt beispielsweise für Schalentiere, bei denen es in Hämocyanin enthalten ist, das dem menschlichen Hämoglobin entspricht [5].

Wiederkäuer wie Schafe und Rinder reagieren empfindlich auf erhöhte Kupferkonzentration im Futter. Schafe und Rinder sind die einzigen bekannten Tiere, bei denen Kupfervergiftungen bis hin zum Tod auftreten. Erhöhte Kupferkonzentrationen führen zu einer Schädigung der Leber durch Hepatitis und zu einer Schädigung durch hämolytische Anämie [9].

Obwohl Cu als Mikronährstoff für Pflanzen essentiell ist, ist ihre Toleranz gegenüber Cu gering. Ab einer Konzentration von 20-30µg Cu/g Trockenmasse wirkt Cu auf Nutzpflanzen toxisch [7]. Kupfer ist in der Lage durch Autooxidation (Gleichung 1) oder durch Reduktion von H_2O_2 (Fenton Reaktion Gleichung 2) freie Sauerstoffradikale zu bilden. Die Reaktion der gebildeten, freien Sauerstoffradikale mit Nichtradikalen führt dann zur Synthese neuer Radikale.

Gleichung 1: $Cu(I) + O_2 \rightarrow Cu(II) + O_2^{-}\cdot$

Gleichung 2: $Cu(I) + H_2O_2 \rightarrow Cu(II) + OH^{-} + OH\cdot$

Die in Gleichung 1 und Gleichung 2 beschriebenen Reaktionen führen in der Pflanze zu Membranschäden, die sich ihrerseits negativ auf die Photosyntheseleistung der Pflanze auswirken [7].

Kupferionengehalt von höheren Organismen am Beispiel „Miesmuschel“

Kupfer ist für höhere Organismen essentiell. Sie können die Kupferkonzentrationen in ihrem Körper regulieren. Dennoch können hohe Konzentrationen an bioverfügbarem Kupfer auf den Organismus toxisch wirken. Tiere, die auf mit Kupfer verseuchten Böden weiden, nehmen Konzentrationen auf, die ihre Gesundheit beeinträchtigen. Besonders Schafe haben eine geringe Toleranz gegenüber Kupferionen.

Besonders intensiv ist die Exposition für filtrierende Organismen wie Miesmuscheln, die sowohl partikelgebundenes als auch gelöstes Kupfer aufnehmen und deshalb relativ hohe Konzentrationen anreichern können. Miesmuscheln aus der Nordsee weisen geringere Kupfergehalte auf als Muscheln aus der Ostsee. Sie spiegeln damit die unterschiedlichen natürlichen Kupferkonzentrationen in Nord- und Ostsee wider (Abb. 1) [6].

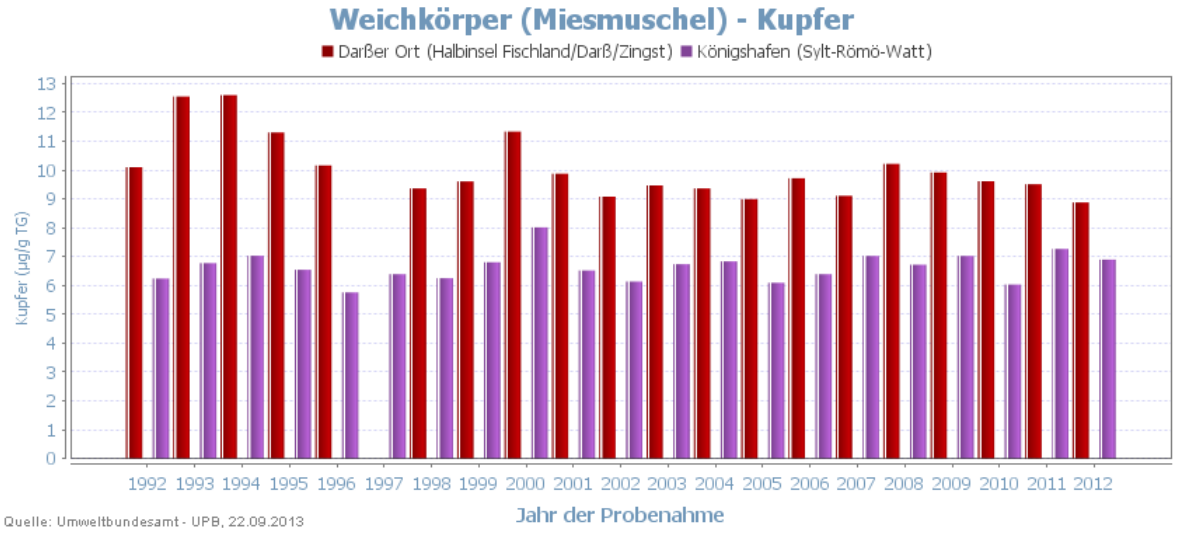

Abbildung 1: Kupfergehalt Miesmuschel, geändert nach [6]

Auswirkungen auf Bodenlebewesen

Erhöhte Kupferkonzentrationen verringern die Effizienz der Substratzersetzung durch Mikroorganismen. Gleichzeitig kommt es bei Mikroorganismen zu einer hohen Streuung der Empfindlichkeiten. Generell gilt, dass Mikroorganismen gute Anpassungsfähigkeiten an ihre Umgebung besitzen, sodass Ihre Kupfertoleranz von der Kupferverfügbarkeit ihrer Umgebung abhängig ist [8].

Aus Studien mit Makroorganismen wie Regenwürmern ist bekannt, dass hohe Kupferkonzentrationen im Boden zu einer Abundanz führen. Zudem verändert sich die Zusammensetzung der Lebensgemeinschaften im Boden [8].

Toxikologie Kupfer

Oral aufgenommen ist reines Kupfer für Menschen wenig toxisch, während Kupfersalze wie zum Beispiel Kupfersulfat ätzend wirken [9]. Trotzdem treten bei oraler Aufnahme Beschwerden wie metallischen Geschmack, Durchfall, Übelkeit, Erbrechen (blaugrüne Färbung des Erbrochenen), abdominale Schmerzen und Koliken auf. Schädigungen der Leber und Nieren sind durch die orale Aufnahme möglich [10].

Hohe Dosen Kupfersalzverbindungen sind toxisch. Sie wirken als Kapillargift und sind hämolysierend. Nach lokaler Anwendung von Kupfersulfat auf der Haut bei Verbrennungen können Kupfervergiftungen auftreten [9].

Die Inhalation von Kupferdämpfen (zum Beispiel durch Einatmen der Dämpfe beim Lichtbogenschweißen) kann zu Metalldampffieber (Fieber, Krankheitsgefühl, Beschwerden im Bereich der Atemwege)führen, das nach einigen Stunden oder Tagen wieder verschwindet. Vermutet wird, das Metalldampffieber durch die Entstehung von Eiweißkomplexverbindungen hervorgerufen wird [9]. Neben dem Metalldampffieber kann es nach der inhalativen Aufnahme zu Beschwerden wie einem metallischen Geschmack im Mund, Halsschmerzen und Husten kommen. Alle Symptome können bereits kurze Zeit nach dem Kontakt mit Kupferverbindungen oder aber nach einer Latenzzeit auftreten [10].

Wiederholter oder Dauerhafter Kontakt mit Kupferdämpfen kann zu einer Dermatitis führen. Es wurde beobachtet, dass bei Arbeitern, die über längere Zeiträume Kupferdämpfen bzw. Kupferstäuben ausgesetzt waren, eine Grünfärbung von Haut, Haaren und Zähnen aufgetreten ist. Kupferionen schädigen viele Zellproteine und können im Magen durch die Freisetzung von Serotonin einen emetischen Anfall auslösen. Es kann eine lokale Verätzung auftreten [10].

Kupfer als Spurenelement

Kupfer ist ein essentielles Spurenelement. Kupferionen haben vielerlei Funktionen im Stoffwechsel und ein Kupfermangel kann zu schwerwiegenden Beeinträchtigungen der Gesundheit führen. Besonders wichtig ist Kupfer für schwangere Frauen, den sich entwickelnden Fötus und Neugeborene. Als Richtwerte für die Kupferaufnahme mit der Nahrung werden normalerweise 1 bis 2 Milligramm für Erwachsene und 0,5 bis 1 Milligramm für Kinder pro Tag empfohlen [11].

Der Gesamtbestand des Kupfers im Körper beträgt rund 80 bis 120 Milligramm. Um den Kupferbestand im Körper konstant zu halten muss ein Erwachsener täglich rund ein bis drei Milligramm Kupfer über die Nahrung zu sich nehmen. Lebensmittel mit einem hohen Kupfergehalt sind Getreide, Fleisch, Fisch und Krustentiere, Wurzelgemüse, Hülsenfrüchte, Nüsse, Kartoffeln, Champions und Schokolade [11].

Der Cu-Gehalt in Lebensmitteln ist allerdings keine konstante Größe, sondern schwankt, je nach Zubereitungsart der Lebensmittel um den Faktor 100 schwanken. Gesicherte Bedarfsempfehlungen für Cu existieren bisher nicht. Die WHO gibt den Durchschnittsbedarf an Cu mit 11 µg/kg Körpergewicht an [12].

Kupfer - Physiologie

Kupfer in ionischer Form ist in mindestens 16 essentiellen Metalloproteinen enthalten und wird zur Aktivierung zahlreicher Enzyme benötigt. In den Erythrozyten ist es Bestandteil der antioxidativ wirkenden Superoxiddismutase [14]. Bei der Bildung von Hämoglobin spielt Kupfer eine bedeutende Rolle. Die Synthese des Pigments Melanin, ist ebenfalls von diesem Spurenelement abhängig.

Ein Kupfermangel kann Symptome wie Blutarmut, Störung der Nervenzellen, Haut- und Haarpigmentstörungen oder Bindegewebsstörungen hervorrufen [15]. Der Serum-Kupferspiegel kann von Infekten, der Einnahme oraler Kontrazeptiva (Antibabypille, Karzinomen etc. beeinflusst werden. Alters- und Geschlechtseinflüsse beeinflussen den Serum-Kupferspiegel ebenfalls, sodass er mit zunehmendem Alter ansteigt und Frauen generell einen höheren Serum-Kupferspiegel als Männer besitzen [12].

Bioverfügbarkeit von Kupferionen

Verschiedene Bestandteile der Nahrung beeinflussen den Kupferstoffwechsel, indem sie zu Veränderungen in der Absorptions- und Ausscheidungsrate sowie der Cu-Verteilung im Körper führen. Beispielsweise fördert die gleichzeitige Zufuhr von Vitamin C (Ascorbinsäure), einigen Aminosäuren, Glucosepolymeren, Proteinen, Fumarsäure, Oxalsäure sowie anderen organischen Säuren die Kupferabsorption. Ascorbinsäure ist in der Lage, Cu^{2+} zu Cu^{+} zu reduzieren. Auf diesem Weg kann die Cu-Aufnahme gesteigert werden [13].

Zu hohe Konzentrationen an Ballaststoffen, Calcium, Phosphat, Zink, Eisen, Molybdän, Cadmium, Sulfid und Phytinsäure vermindern die Absorption von Kupfer [13].

Zink kann zur Hemmung des Cu-Ionen-Transports in die Enterozyten (Zellen der Dünndarmschleimhaut) und zur intrazellulären Bindung an dem Speicherprotein Metallothionein während der Dünndarmschleimhautpassage führen. Zink verhindert dadurch eine Cu-Überladung der Zelle sowie den Cu-Transport an die basolaterale Enterozytenmembran und damit die Cu-Aufnahme in die Blutbahn. Hochdosierte Gaben von Antazida oder Penicillamin wirken sich negativ auf die Kupferversorgung aus [13].

Cu-Ionen– Resorption im Organismus

Kupferionen liegen in der Nahrung und im Organismus aufgrund seiner Elektronenkonfiguration in gebundener Form und nicht als freies Ion vor. So kann Kupfer mit biochemisch wichtigen Verbindungen, wie Proteinen, Komplexbindungen bilden [13].Die Cu-Resorption erfolgt im Zwölffingerdarm (Duodenum) und im Leerdarm (Jejunum). Die Resorptionsquote liegt - abhängig von der Zufuhrhöhe - zwischen 30–75 %. Die Resorption erfolgt durch Diffusion (Aufnahme von Kupfer vom Darmlumen in die Darmschleimhaut) und aktiven Transport (Transport von der Darmepithelzelle in das Blut), wobei der aktive Transport der limitierende Faktor der Cu-Resorption ist [12].

Die Cu-Resorption kann durch Zink, Eisen, Molybdän, Fruktose und Zucker beeinträchtigt werden. Reduzierende Substanzen wie z. B. Vitamin C verschlechtern die Cu-Resorption, weil das bei der Reduktion entstehende Cu I schlechter resorbierbar ist als Cu II [12]. Der Kupferbestand wird durch Anpassung der Kupfer-Absorption im Darm und der Ausscheidung reguliert. Bei Kupfermangel ist die Absorptionsrate im Körper gesteigert, während bei erhöhtem Kupfer-, Zink- oder Eisen-Angebot die weitere Cu-Aufnahme beziehungsweise Cu-Abgabe reduziert beziehungsweise blockiert wird [13].

Die Verdauungssekrete des menschlichen Organismus sind relativ kupferhaltig, weil die von den Verdauungsdrüsen abgesonderten Cu-Mengen größer sind, als die durch die Nahrung aufgenommenen Kupfermengen. Das aus dem Darmlumen abgesonderte Kupfer stammt somit nur zum kleineren Teil aus der Nahrung und ist zum größeren Anteil reabsorbiertes Cu [12].

Die Galle weist einen vergleichsweise hohen Cu-Gehalt auf. Das mit der Galle abgesonderte Cu ist schlechter resorbierbar als das Cu anderer Sekrete. Deshalb ist der „Darm-Leber-Kreislauf“ von Kupfer gering. Das mit dem Stuhl ausgeschiedene Cu stammt größtenteils aus der Galle.

Die Cu-Ausscheidung über den Harn ist gering und beträgt ca. 0,1–0,3 mg/d [12]. Bei dauerhaft hohem Kupferangebot wird ein Teil des Kupfers in den Schleimhautzellen des Dünndarms an im Cytoplasma lokalisierte Metallothioneine (Cysteinreiche Proteine, die Schwermetalle im Blut binden[16]) gebunden [13].

Das Metallothionein speichert das aufgenommene Kupfer und gibt es erst bei Bedarf an das Blut ab. Gleichzeitig wird überschüssiges Kupfer detoxifiziert, sodass keine Sauerstoffradikale katalysieren können[13].

Transport und Verteilung

Das absorbierte Kupfer wird im Blut an die Plasmaproteine Albumin und Transcuprein sowie an niedrigmolekulare Liganden, wie beispielsweise die Aminosäure Histidin, gebunden [13].

Der Cu-Plasma-Spiegel liegt unter normalen Bedingungen bei etwa 0,5-1,5 µg/ml und ist bei Frauen um 10 % höher als bei Männern. Die Nahrungsaufnahme oder Fasten beeinflusst den Cu-Gehalt im Plasma nicht. Am Ende einer Schwangerschaft ist der Cu-Plasma-Spiegel nahezu verdoppelt bis verdreifacht. Diese Konzentrationserhöhung ist nach der Einnahme von Kontrazeptiva wie der Antibabypille ebenfalls zu beobachten. Eine Erklärung für die Erhöhung des Cu-Plasma-Spiegels gibt es momentan noch nicht[13].

Eine Erhöhung des Cu-Plasma-Spiegels kann aber auch andere, krankheitsbedingte Ursachen haben. Mögliche Ursachen für einen erhöhten Cu-Plasma-Spiegel sind:

- Infektionen
- Nierenversagen
- Myokardinfarkt (Herzinfarkt)
- Schilddrüsenüberfunktion
- systemische Autoimmunerkrankungen
- Biliäre Leberzirrhose
- Leukämie
- Aplastische Anämie
- Gabe von Östrogenen.

Transcuprein, Albumin und Histidin transportieren Kupfer über die Pfortader (vena portae) zur Leber, wo es aufgenommen wird. Die Leber ist das zentrale Organ des Kupferstoffwechsels („Darm-Leber-Kreislauf“ bei der Cu-Resorption) und der wichtigste Kupferspeicher des Organismus. In den Leberzellen wird das Kupfer gespeichert oder über Transportproteine, zu spezifischen, subzellulären Kompartimenten geleitet. Dort wird das Kupfer in kupferabhängige Enzyme, wie Caeruloplasmin, Cytochrom-C-Oxidase oder Superoxid-Dismutase eingebaut [13].

Von besonderer Bedeutung ist das Plasmaprotein Caeruloplasmin, weil es eine Enzymfunktion sowie eine spezifische Bindungs- und Transportfunktion für Kupfer besitzt. Caeruloplasmin ist für die Oxidation von zweiwertigem zu dreiwertigem Eisen und für die Bindung von Eisen an Plasmatransferrin unerlässlich [13].

Ein Teil des Kupfers wird während der Caeruloplasmin-Synthese in das Enzym eingebaut und in Form von Kupfer-Caeruloplasmin von der Leber erneut an das Blut abgegeben. Der in den Leberzellen verbleibende Kupferanteil wird in Metallothionein gespeichert [13].
Das im Plasma an Caeruloplasmin gebundene Kupfer wird bedarfsgerecht im Organismus an verschiedene Organe und Gewebe verteilt. Die zelluläre Aufnahme erfolgt durch membranständige Cu-Rezeptoren[13].

Kupfer ist nach Eisen und Zink das dritthäufigste Spurenelement im menschlichen Organismus. Die genaue Kupferverteilung im Körper auf die verschiedenen Organe ist in Abb. 2 dargestellt. Die höchsten Konzentrationen an Kupfer finden sich vor allem in der Muskulatur (35 %), Leber und Gehirn (jeweils 20 %) [17]. Nur 10 % des gesamten Kupferbestandes sind im Serum enthalten. Davon liegen etwa 80 bis 95 % in Form von Cu-Caeruloplasmin vor [13].

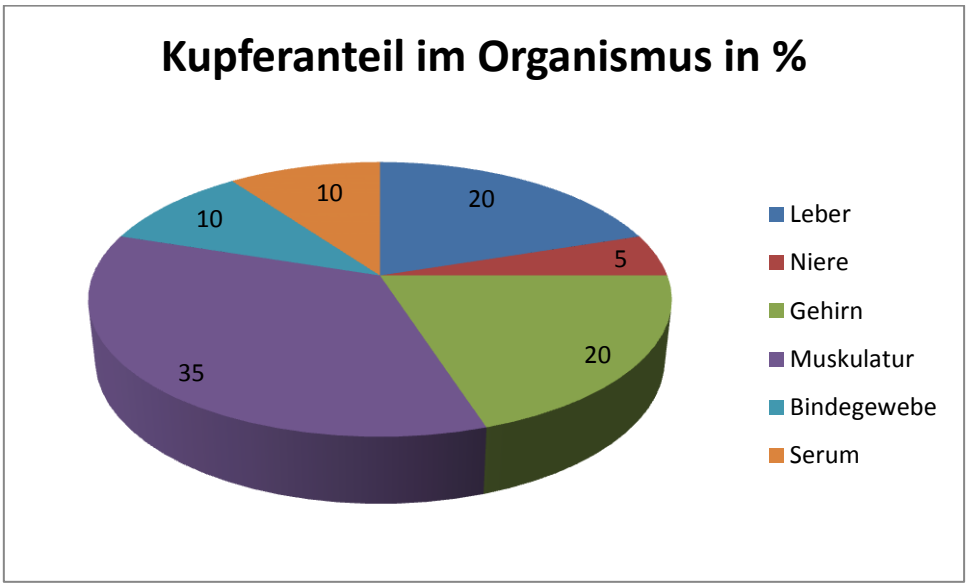

Abbildung 2: Kupferverteilung im Körper [17]

Ausscheidung

Neben der Absorption ist die Ausscheidung zur Aufrechterhaltung des Cu-Gleichgewichts im Körper unerlässlich. Über die Galle werden über 80% des Kupfers mit dem Stuhl ausgeschieden**.** Dazu wird das Spurenelement durch Abbau aus der Verbindung Cu-Metallothionein sowie Cu-Caeruloplasmin in den Leberzellen beziehungsweise im Plasma freigesetzt und an einen Transporter gebunden. Danach wird es in die Gallenflüssigkeit abgegeben und in Verbindung mit Proteinen, Gallensäuren und Aminosäuren über den Stuhl ausgeschieden [13].

15 % des überschüssigen Kupfers werden über die Darmwand in das Lumen abgesondert und ebenfalls über den Stuhl eliminiert. Nur 2-4 % werden renal mit dem Urin ausgeschieden [13]. Bei tubulären Defekten können die Verluste über die Nieren mit dem Urin signifikant ansteigen. Verluste an Kupfer über die Haut sind variabel und werden im Durchschnitt auf 0,34 mg/d geschätzt [13].

Funktion im Körper

Kupfer zeigt eine aktivierende und somit unterdrückende Wirkung bei der Synthese einer RNA auf Vorlage von DNA (Transkription). Dadurch ist Kupfer an der Regulation der Transkription beteiligt. Außerdem ist Kupfer essentiell für das Wachstum von Blutgefäßen und die Ausstattung der Nervenfasern mit Myelin, einer lipidreichen Biomembran. Die Wirkung von Endorphinen wird von Kupfer beeinflusst [18].

Kupfer ist ein wesentlicher Bestandteil von enzymatischen und strukturellen Proteinen im menschlichen Körper. Kupferhaltige Proteine besitzen eine Redox-Aktivität. Das Kupfer ist in diesen Proteinen für die Elektronenübertragung zuständig. Außerdem ist Kupfer essentiell für die 3 Oxidoreduktasen SOD1, COX und Cpl [18]:

- Superoxid-Dismutase (SOD1)
- Cytochrom-C-Oxidase (COX)
- Caeruloplasmin (Cpl).

Superoxid-Dismutase

Superoxid-Dismutase werden Enzyme genannt, die Superoxid-Anionen zu Wasserstoffperoxid umwandeln. Diese Enzyme kommen in allen Lebewesen vor. Nur vereinzelten anaeroben Bakterien fehlen diese Enzyme. Superoxid ist sehr reaktionsfreudig und kann Proteine und das Genom durch oxidativen Stress schädigen. SOD1 ist daher besonders wichtig für aerobe Lebewesen [19].

Das Enzym Superoxid-Dismutase ist im Cytoplasma angesiedelt. SOD1 ist für die Katalysierung der Eliminierung von hochgiftigen Superoxidanionen zuständig, die bei der Anlagerung von Sauerstoff an Hämoglobin entstehen. SOD1 reduziert die Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid, der anschließend von Peroxidasen zu Wasser und Sauerstoff entgiftet wird [18]. Die folgende Reaktionsgleichung (Gleichung 3) zeigt die Reduktion der Superoxidanionen durch SOD1 zu Wasserstoffperoxid [18].

Gleichung 3: $2O_2^- + 2H^+ \longleftrightarrow O_2 + H_2O_2$

Cytochrom-c-Oxidase

Cytochrom-c-Oxidase ist ein Proteinkomplex, der sich an der Innenseite der Mitochondrienmembran befindet. COX katalysiert die Reduktion von molekularem Sauerstoff zu Wasser [18]. Dies geschieht mit einer gekoppelten Reaktion, bei der zuerst Cytochrom oxidiert und anschließend Sauerstoff zu Wasser reduziert wird. Gleichzeitig werden Protonen über die biologische Membran transportiert. Die Cytochrom-c-Oxidase gehört zu den Häm-Kupfer-Oxidasen, die bei allen aerob atmenden Organismen für nahezu sämtlichen Sauerstoffverbrauch verantwortlich sind[20]. COX besitzen eine große strukturelle und funktionelle Homologie und enthalten im aktiven Zentrum eine Häm-Gruppe und ein Kupfer-Ion[20].

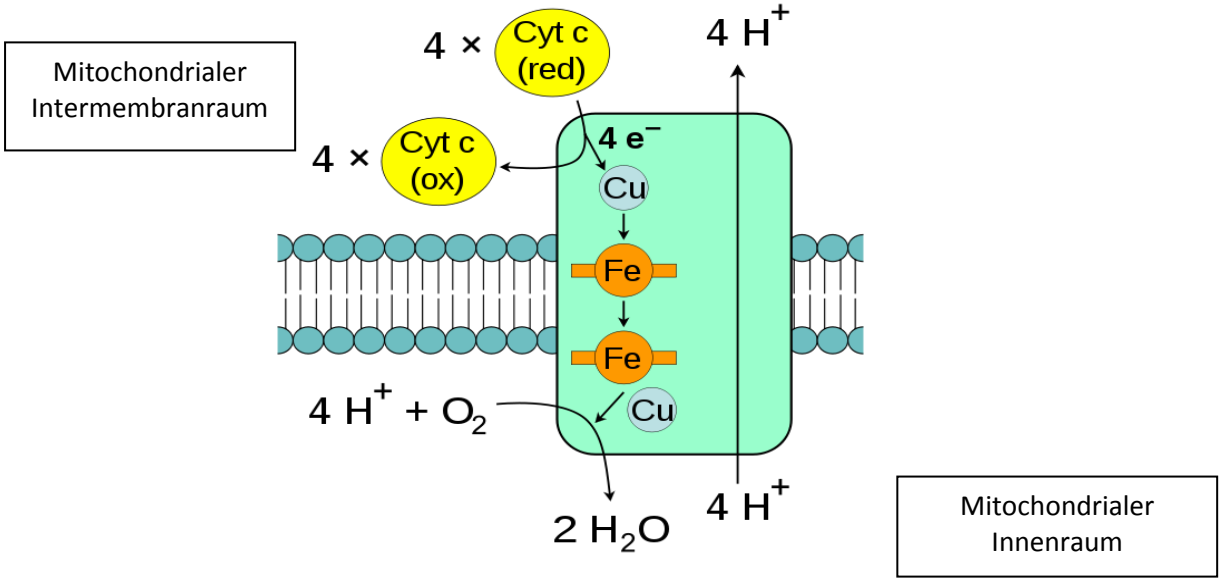

Abbildung 3: Transmembran-Protonentransport durch COX [20]

Abb. 3 zeigt den Transmembran-Protonentransport durch COX. Gleichung 4 gibt die Abläufe dieser Reaktion wieder.

Gleichung 4: $4\ Cytc(Fe^{2+}) + O_2 + 8\ H^+_{innen} \rightarrow 4\ Cytc(Fe^{3+}) + 2\ H_2O + 4\ H^+_{außen}$

Während des katalytischen Zyklus der Cytochrom-*c*-Oxidase wird ein Molekül Sauerstoff (O_2) zu zwei Molekülen Wasser (H_2O) reduziert. Als Reduktionsmittel werden vier Elektronen (e^-) von vier Molekülen Cytochrom *c* sowie Protonen (H^+) für die Wasserbildung aus dem Innenraum des Mitochondriums (Matrix) gebraucht [20]. Die bei der Reduktion von Sauerstoff zu Wasser freigesetzte Energie wird zum Aufbau eines Protonengradienten über die innere Mitochondrienmembran genutzt. Pro Reaktionszyklus werden vier Protonen aus dem Innenraum des Mitochondriums in den Intermembranraum transportiert[20].

Caeruloplasmin (Cpl)

Caeruloplasmin ist ein Plasmaprotein und wirkt als Kupferspeicher. Der Kupfergehalt des Serums ist fast komplett auf Cpl zurückzuführen. Cpl hilft, Eisenansammlungen aus Zellen heraus zu transportieren. Es wird in der Leber und im Gehirn gebildet und erhält bereits bei seiner Biosynthese sechs Kupferionen. Cpl kann bis zu 8 Kupferionen pro Molekül transportieren [21].

Das Serum-Caeruloplasmin wird bei der Diagnostik des Eisen- und Kupferstoffwechsels bestimmt. Bei schweren Infektionskrankheiten und in der Schwangerschaft können die Serumwerte ansteigen [21]. Cpl katalysiert den Oxidationsprozess von zweiwertigem zu dreiwertigem Eisen. Diese Katalyse ist die molekulare Verbindung zwischen Eisen – und Kupferstoffwechsel im menschlichen Organismus. Zudem ist Cpl an der Oxidation von aromatischen Diaminen wie Adrenalin, Noradrenalin, Serotonin und Melatonin beteiligt. Über Caeruloplasmin gelangt das in der Leber gespeicherte Kupfer in periphere Gewebe [18].

Kupferhaltige Enzyme und ihre Funktion

Tabelle 2 zeigt die kupferhaltigen Enzyme/Proteine und ihre jeweilige Funktion im Organismus.

Tabelle 2: Funktion kupferhaltiger Enzyme/Proteine [18]

Enzym/Protein	Funktion
Aminosäure-Oxidase	Irreversible Desaminierung von Aminosäuren durch Dehydrierung
Cytochrom-c-Oxidase	Katalyse der Reduktion von O_2 zu H_2O
Diaminoxidase	Dehydration von Aminen mit zwei Aminogruppen zu Iminen
Dopamin-ß-Hydroxylase	Bildung von Noradrenalin aus Dopamin im Nebennierenmark
Caeruloplasmin	Oxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+} Oxidation aromatischer Diamine (Adrenalin, Serotonin etc.)
Ferrioxidase II	Oxidation von Fe^{2+} zu Fe^{3+}
Katalase	Eliminierung von H_2O_2 durch ($H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$)
Lysyl-Oxidase	Kollagen und Elastinbiosynthese durch Kreuzvernetzung
Monoaminoxidase	Dehydration von Aminen mit einer Aminogruppe zu Iminen Intramitochrondriale Inaktivierung aromatischer Diamine
Superoxid-Dismutase	Reduktion von toxischen Superoxidanionen zu H_2O_2
Tyrosinase	Umwandlung von L-Tyrosin in 3,4-Dihydroxyphenylalanin

Kupfermangel

Kupfer wird über den Magen-Darm-Trakt aufgenommen. Es befindet sich in vielen Nahrungsmitteln wie Fleisch, Nüssen, Meeresfrüchten, Bohnen und Getreideprodukten. Der Tagesbedarf eines Menschen liegt bei 1 -3 mg. Insbesondere bei sportlicher Belastung steigt der Bedarf an. Die Ausscheidung von Kupfer erfolgt über Urin (täglich etwa 0,1 mg), Galle und Muttermilch [22].

Ursache für einen Kupfermangel kann die zu geringe orale Zufuhr (Tagesbedarf Frau: 0,6mg/1000kcal; Tagesbedarf Mann 0,5mg/1000kcal) oder aber auch eine schlechte Resorption in Zwölffinger- und Leerdarm sein [22].

Ein klinisch manifestierter Cu-Mangel kann durch eine niedrige Cu-Serum-Konzentration bestimmt werden. Auch geringe Spiegel von Caeruloplasmin und Superoxid-Dismutase, sowie eine Anämie oder Neutropenie sind ein sicheres Indiz für einen Kupfermangel [12].

Weitere Folgen eines Kupfermangels sind [12]:

- Knochenveränderungen mit Frakturneigungen
- speziell bei Kindern: Wachstumsstörungen und eine erhöhte Infektionsanfälligkeit
- verminderte Gefäßreaktionen auf Catecholamine (Dopamin, Adrenalin, Noradrenalin etc.)
- verminderte Freisetzung von Prostazyklinen
- Hypercholesterinämie
- EKG-Veränderungen
- Veränderte Glukoseclearance *
- Postmenopausale Osteoporose
- Veränderung des Erscheinungsbildes (fahle Haut, schnelles Ergrauen der Haare) [24]

Klinisch-manifestierter Cu-Mangel kann bei Neu- und Frühgeborenen sowie bei mangelernährten Kindern auftreten. Bei Erwachsenen kann es durch länger andauernde parentale Ernährung (künstliche Nahrungsgabe über eine Sonde, wobei der Magen-Darm-Trakt übergangen wird) und daraus resultierender mangelnder Cu-Resorption zu einem Kupfermangel kommen [12].

Wenn eine ungenügende Cu-Zufuhr mit einer Diarrhoe (Durchfallerkrankung) verbunden ist, besteht ebenfalls aufgrund mangelnder Cu-Resorption die Gefahr eines Kupfermangels. Krankheiten, die mit einem chronischen Proteinverlust einhergehen, erhöhen das Risiko für einen Cu-Mangel, da in diesen Fällen die Transportproteine fehlen. Eine hohe Zufuhr an Zucker und Fruktose kann die Mangelsituation verstärken [12].

*** Exkurs Clearance**

„Die Clearance ist das Blutplasmavolumen, das in einer bestimmten Zeit von einem bestimmten Stoff befreit. Die Clearance ist ein sehr sensibler Indikator für Störungen der Nierenfunktion. An der Clearance lässt sich ablesen, was mit einem Stoff in der Niere passiert: Wichtige Stoffe (z.B. Glucose als Energieträger und Aminosäuren als Bausteine für den Körper) werden stark rückresorbiert, d.h. ihre Clearance ist sehr klein (bei Glucose normalerweise = 0). Giftige Substanzen oder Stoffwechselendprodukte sollen ausgeschieden werden“ [23].

Menkes Krankheit

Die Menkes-Krankheit (MD) ist eine schwere, multi-systemische Störung des Kupferstoffwechsels und gekennzeichnet durch fortschreitende Neurodegeneration, ausgeprägte Bindegewebsstörungen und schütteres, abnormes 'Stahlhaar' [25].

In Europa liegt die Prävalenz (Krankheitshäufigkeit) im Säuglingsalter bei 1:300.000, 1:360.000 in Japan und 1-2:100.000 in Australien. Das vermehrte Auftreten in Australien ist vermutlich Folge eines Gründereffektes [25].

Die MD ist eine X-chromosomale Krankheit, bei der hauptsächlich das männliche Geschlecht betroffen ist. Die MD wird X-chromosomal-rezessiv vererbt. Die weiblichen Konduktorinnen (Überträger der Krankheit) sind in der Regel symptomfrei [25].

Bei Mädchen kann das Genprodukt vom zweiten, gesunden X-Chromosom in ausreichender Menge gebildet werden. Es liegt eine Mutation im ATP7A-Gen vor. Dieses Gen kodiert für ein intrazelluläres Kupfertransportprotein. Bei Mutationen ist die Kupferabgabe bei normaler Kupferaufnahme gestört. In der Folge ist die Cu-Resorption im Darm nicht ausreichend. Zudem führt die Mutation zu einer falschen Verteilung des Spurenelements im Organismus. Erniedrigten Konzentrationen in Leber und Gehirn stehen erhöhte Konzentrationen in Darmzellen, Herz, Bauchspeicheldrüse und Nieren gegenüber [26].

Die verminderte Aktivität der kupferabhängigen Enzyme wie Cytochrom-C-Oxidase, Lysyl-Oxidase, Superoxid-Dismutase, Dopamin-ß-Hydroxlase und Ascorbinsäure-Oxidase führt zu den charakteristischen Symptomen einer fortschreitenden Schädigung des Gehirns und einer Bindegewebserkrankung [26].

Es sind verschiedene Verlaufsformen des Syndroms bekannt, die durch Mutationen an unterschiedlichen Stellen zustande kommen. Bisher wurden im ATP7A-Gen etwa 200 verschiedene Mutationen beschrieben. Zwischen den einzelnen Mutationen und dem jeweiligen klinischen Verlauf besteht keine klare Beziehung [25].

Die Prognose ist ungünstig. In der Regel versterben die Patienten im frühen Kindesalter, jedoch können sorgfältige medizinische Betreuung und evtl. auch die parentale Zuführung von Kupfer (künstliche Gabe am Magen-Darm-Trakt vorbei, z.B. per Magensonde) das Leben verlängern. Die orale Gabe von Kupfer ist wirkungslos, da aufgrund der fehlenden Cu-Resorption im Darm nicht ausreichend Cu zur Verfügung gestellt wird. Die Behandlung ist weitgehend symptomatisch. Durch frühe parenterale Supplementierung mit Kupfer-Histidin werden Gewebe und kupferabhängige Enzyme mit zusätzlichem Kupfer versorgt. Dadurch können die Progredienz (Fortschritt der Krankheit) und einige Symptome der Krankheit beeinflusst werden [25].

Kupfer-Histidin kann in das Unterhautfettgewebe gespritzt werden. Da es als Kupfertransportprotein im Blut vorkommt, kann über die Blut-Liquor-Schranke auch das Gehirn erreichen. Wenn bereits neurologische Symptome bestehen, kann Kupferhistidin den fortschreitenden Krankheitsverlauf nicht mehr aufhalten. Auch durch eine frühzeitige Kupferersatztherapie ist kein günstiger Verlauf garantiert. Die Therapie mit Kupferhistidin lediglich die neurologische Entwicklung der Kinder positiv beeinflussen. Die Bindegewebssymptome sind nicht therapierbar [26].

Kupfervergiftung

Es existieren Angaben über die akute und die chronische toxische Wirkung von Cu. Die WHO empfiehlt eine Begrenzung der langfristigen Cu-Zufuhr auf 0,5 mg Cu/kg Körpergewicht und Tag, wobei nicht mehr als 10 % dieser Dosis vom Trinkwasser stammen sollen. Auf dieser Begrenzung beruht auch die Empfehlung einer Konzentrationslimitierung für Cu im Trinkwasser auf 2 mg/l [12].

Ab einer Dosis von 10–15 mg Cu werden die ersten Symptome einer Cu-Intoxikation sichtbar. Diese betreffen in erster Linie den Verdauungsapparat. Symptome u.a. sind:

- erhöhter Speichelfluss
- Übelkeit
- Erbrechen
- Magenschmerzen
- Diarrhoen.

Hohe Dosen im Grammbereich führen zu:

- Leber- und Nierenschädigung
- Hämolyse
- Gehirnschäden
- Koma
- Tod

Eine chronische Cu-Intoxikation führt über eine Akkumulation von Cu in der Leber zu einer sich langsam entwickelnden Hepatitis, Leberzirrhose und einer hämolytischen Krise [12].

Morbus Wilson

Der M. Wilson ist eine autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung, welche zu einer fortschreitenden Kupferanreicherung in Leber und Gehirn führt.

Mit der Nahrung werden täglich 0,8 bis 2,0 mg Kupfer aufgenommen, welches nach der Resorption nahezu vollkommen von den Leberzellen aufgenommen und zur Synthese von Coeruloplasmin und anderen Proteinen verwendet wird. Überschüssiges Kupfer wird an Gallenflüssigkeit gebunden mit dem Stuhl ausgeschieden [28].

Das Wilson-Gen (ATP7B) kodiert für ein ATP-abhängiges Kupfertransportprotein, welches das Kupfer aus dem Zytoplasma der Leberzellen in dieses System überführt. Dort erfolgt die Bindung des Kupfers an Proteine wie das Apo-Coeruloplasmin (Coeruloplasmin in der Leber). Patienten mit M. Wilson weisen eine Mutation in diesem Gen auf. Das führt zu einem Funktionsverlust des Transportmechanismus und somit zu einer verminderten Beladung des Apo-Coeruloplasmins. Hinzu kommt, das Apo-Coeruloplasmin intra- und extrazellulär nur eine Halbwertszeit von wenigen Stunden hat. Die Halbwertszeit von Coeruloplasmin beträgt ca. 4 Tage [29].

Aus dem verminderten Transport von Kupfer zum Gallepool der Leberzellen resultiert eine Kupferakkumulation mit der Folge der Zellschädigung.

Therapeutisches Ziel zur Behandlung von M. Wilson ist die Entleerung der Kupferspeicher. Dazu werden Chelatbildner verwendet, die Kupfer binden und zu einer gesteigerten Kupferausscheidung über den Urin und die Galle im Stuhl führen. Eine signifikante Besserung der Symptome tritt erst nach 6 Monaten, eine ausgeglichene Kupferbilanz nach 12-18 Monaten auf [30].

Biochemische-/Antibakterielle Eigenschaften Kupferionen

Aus den chemischen Eigenschaften von Kupfer (niedriger energetischer Zustand, siehe Abschnitt „chemische Eigenschaften Kupfer“) ergibt sich eine Vielzahl von chemischen und biochemischen Konsequenzen (Punkte 1-7) [31].

1. Kupferkationen sind im Gegensatz zu den anderen Übergangsmetallen der ersten Übergangsperiode in wässriger Lösung in den Oxidationsstufen Cu (I) und Cu (II) stabil [31].
2. Das Standard Redoxpotential von CU (I) und CU (II) bei pH 7 und 25 °C beträgt E_{0}' = -261 mV. Seitdem das Leben auf Wasser basiert, ist die Redox-Biochemie in Organismen auf den Bereich der Redoxpotentiale der Wasserbestandteile molekularer Wasserstoff (E_{0}' = -414 mV) und molekularer Sauerstoff (E_{0}' = +815 mV) limitiert. Cu (I) und Cu (II) gehört zu den Metallen, dessen Standardredoxpotential in diesen Bereich fällt, im Gegensatz zu Na, Mg, Ca, K, freien Ni und Co [31].
3. Im Vergleich zu Reaktionen mit Mn, sind Redoxreaktionen mit Kupfer „Ein-Elektron-Transfer-Reaktionen“ [31].
4. Einzelne, Eisen abhängige Redoxreaktionen sind ebenfalls „Ein-Elektron-Transfer-Reaktionen“, aber das FE (II) und FE (III) Elektronenpaar hat ein größeres Standard Redoxpotential (E_{0}' = +357 mV) als das Elektronenpaar des Kupfers. Deshalb ist der Elektronentransfer von Cu (I) zu molekularen Sauerstoff thermodynamisch gesehen wesentlich vorteilhafter als der von Eisen zu Sauerstoff, sodass Kupfer ein sehr guter Partner für Redoxreaktionen mit Sauerstoff ist [31].

Aus den Punkten 1-4 ergibt sich die Bedeutung von Kupferkationen für den menschlichen Organismus. Kupfer ist für eine Vielzahl von biochemischen Reaktionen mit Sauerstoff essentiell. Gleichzeitig nehmen ungebundene Kupferkationen an gefährlichen, „Fenton-ähnlichen“ Reaktionen (Gleichungen 5 und 6) [33] teil, die durch die Produktion von Hydroxiradikalen zu oxidativen Schäden an den Makromolekülen der Zellen führen[31].

Gleichung 5: $\cdot O_2^- + Cu^{2+} \rightarrow O_2 + Cu^+$

Gleichung 6: $Cu^+ + H_2O_2 \rightarrow Cu^{2+} + \cdot HO + HO^-$

5. Kupferkation sind, wie Kationen anderer Übergangsmetalle, in der Lage stabile Komplexverbindungen zu bilden [31].
6. Der Atomradius** von Cu^+ (960pm) ist fast genauso groß wie der Atomradius von Na^+ (950pm)und der Radius von Cu^{2+} (690pm) entspricht fast dem Radius von Mg^{2+} (650pm). Aufgrund dieser Tatsache und wegen der größeren Ähnlichkeit der Orbitalgrößen bilden Cu^{2+} - Kationen viel leichter Komplexe mit den Nicht-Metallen Stickstoff und Sauerstoff der zweiten Übergangsperiode als es andere zweiwertige Kationen der ersten Übergangsperiode tun [31].

**** Exkurs Atomradius**

Einem Atom werden zur Vorhersage von Bindungsverhältnissen verschiedenartige Atomradien zugeschrieben. Ein absoluter Radius eines Atoms oder die absolute Größe eines Atoms kann nicht angegeben werden, da ein Atom nach den Vorstellungen der Quantenmechanik keine definierte Grenze besitzt. Je nach vorliegendem chemischem Bindungstyp kann man eine effektive Größe eines Atoms bestimmen, die den Abstand der Atomkerne in einer gegebenen chemischen Verbindung dieses Typs angibt [34].

7. Cu^{+} ist wesentlich größer als Cu^{2+}, Na^{+} und Mg^{+} Kationen und bindet deshalb den „Komplexligand“ Schwefel mit Leichtigkeit. Das erklärt die höhere Affinität von Kupferkationen zu „Komplexliganden“ der zweiten und dritten Periode im Vergleich zu den anderen Metallen der ersten Übergangsgruppe. Deshalb ist Kupfer in der Lage, die Kationen der anderen Übergangsmetalle aus ihren Komplexen zu verdrängen [31].

Die Punkte 5-7 bestimmen eine weitere biochemische Eigenschaft des Kupfers: Kupferkationen binden leicht an Thiol-Gruppen, z.B. von Proteinen, und können somit andere Übergangsmetalle aus ihren jeweiligen Komplexen entfernen [31].

Viele Bakterien nutzen - insofern sie eine gram-negative Zellwand besitzen – Kupfer. Frei lebende Bakterien sind in der Lage die Toxizität von Kupferkationen bis zu einem bestimmten Konzentrationslevel zu tolerieren. Überflüssige cytoplasmische und periplasmische Kupferkationen werden durch Effluxsysteme entfernt, in Verbindungen wie Glutathion oder Cu^{+} gebunden oder zu weniger schädlichen Cu^{2+} oxidiert. Trotzdem werden Bakterien auf trockenen Kupferoberflächen rasch abgetötet. Die Tötungsrate steigt dabei mit der Kupferkonzentration der Oberfläche [31].

Experimente mit *E.Coli* zeigen, das die zelleigene Kupfertoleranz die Tötungsrate durch Kupfer verringern kann, die Zellinaktivierung durch Kupferkationen aber nicht verhindert wird. Das Absterben der Bakterien auf Kupferoberflächen wird wahrscheinlich durch die Freisetzung von Kupferkationen bedingt. Faktoren die reaktive Sauerstoffspezies verringern führen zu einer Reduzierung der Tötungsrate. Deshalb führt die Produktion von hydroxyl-radikalen bei einer „Fenton-ähnlichen“ Reaktion (Gleichung 5 und 6) zur Inaktivierung der reaktiven Sauerstoffspezies [31].

Metallisches Kupfer – Ergebnisse verschiedener Studien

Antimikrobielle Kupferlegierungen sind wirksam im Kampf gegen pathogene Keime. Antimikrobielles Kupfer eliminiert die Bakterien innerhalb von 2 Stunden nach der Exposition nahezu vollständig [32]. Es zeigt sich das Kupfer unter Innenraumbedingungen (Temperatur und Luftfeuchte) wirksam ist. Dies wurde durch Labortests in Deutschland, Großbritannien, den USA und anderen Ländern herausgestellt. Je nach Organismus, Erregerstamm, Kontaminationsgrad, Kupfergehalt der Legierung und Temperatur dauert es unterschiedlich lange, bis die Mikroben abgetötet sind [32].

Klinische Studien zeigen, dass Kupfer die Keimbelastung um mehr als 97 % und das Infektionsrisiko um mehr als 40 % senkt. Im Jahr 1983 veröffentlichte die US-Medizinerin Dr. Phyllis Kuhn eine Studie, in der die Effizienz von Kupfer bei der Verminderung von *E. coli* Keimzahlen auf Messing-Türdrückern nachgewiesen wurde. Kuhn vertritt die Hypothese, dass der Einsatz von Edelstahlprodukten anstelle der verwendeten Messingprodukte zu einer Erhöhung der Infektionsrate geführt hatte [32].

In der Asklepios Klinik Hamburg-Wandsbek wurden zwei Krankenhausstationen, jeweils für 4 Monate im Sommer 2008 und im Winter 2008/2009 mit Türgriffen, Türplatten und Lichtschaltern aus speziellen Kupferlegierungen ausgestattet, um die zu erwartende antimikrobielle Wirkung in einem Feldversuch zu überprüfen. Die umliegenden Bereiche behielten für den Forschungszweck ihre herkömmlichen Griffe und Schalter aus Aluminium und Kunststoff. Zur Überprüfung der antimikrobiellen Wirkung wurden regelmäßig Proben genommen und die Anzahl der Keime auf den verschiedenen Kontaktflächen miteinander verglichen [32]. Der Feldversuch konnte nachweisen, dass die Zahl der Kolonie bildenden Einheiten (KBE) unter Alltagsbedingungen um mehr als ein Drittel verringert wurde. Die Neubesiedlung der Kupfer-Türgriffe und Kupfer-Schalter durch Keime wurde erheblich vermindert. Auf den mit Kupferklinken ausgestatteten Stationen gab es im Untersuchungszeitraum zudem den Trend zu niedrigeren Infektionsraten bei Patienten. Dieser Trend muss allerdings in größeren Studien noch genauer untersucht werden [32].

USA:

Drei medizinische Zentren in den USA nahmen an einer klinischen Studie zur Untersuchung der antimikrobiellen Wirksamkeit von Kupfer auf Intensivstationen teil. In ausgewählten Räumen der Intensivstationen wurden die Kontaktoberflächen aus Edelstahl, Aluminium und Kunststoff auf Rufvorrichtungen, Monitorblenden, Bettgeländern, Stühlen, Infusionsständern, Dateneingabegeräten (Computermäuse, Laptop-Tastaturen), Lehnen von Besucherstühlen und Klapptischen durch Kupferlegierungen ersetzt. Die Oberflächen mit den stärksten Kontamination und sich in unmittelbarer Nähe von Patienten und Besuchern befanden, wurden durch Kupferkomponenten ersetzt.

Während des Versuchs wurde die bakterielle Kontamination auf den Kupfer- und Nicht-Kupferoberflächen wöchentlich ermittelt. Weder die klinischen Praktiken noch die Reinigungsverfahren wurden in den Versuchsräumen geändert. Die Studie wurde von Ärzten für Infektionskrankheiten unter der Leitung von Dr. Michael Schmidt, Professor und stellvertretender Vorsitzender der Abteilung für Mikrobiologie und Immunologie an der Medical University of South Carolina (MUSC), in drei Phasen durchgeführt.

In der ersten Phase wurde der Ausgangswert für die mikrobielle Belastung auf den häufig berührten Objekten in Zimmern der Intensivstationen vor der Installation der Kupferprodukte festgestellt. Die durchschnittliche mikrobielle Belastung lag in diesen Räumen bei 16.885 koloniebildenden Einheiten (KBE) pro 100 cm2 [35].

In der zweiten Phase wurden die am stärksten kontaminierten Berührungsoberflächen durch Kupfer ersetzt. Danach wurde die mikrobielle Belastung auf diesen Oberflächen und auf entsprechenden Nicht-Kupferoberflächen über einen Zeitraum von 135 Wochen verglichen. Die mittlere Gesamtkeimzahl auf Kupferoberflächen war um 97 % geringer als auf den Kontrolloberflächen [36].

In der dritten Phase wurde der Zusammenhang von Krankenhausinfektionen in Zimmern der Intensivstation mit und ohne Objekte aus Kupferprodukten untersucht. Dabei zeigen die Ergebnisse eine signifikante Verringerung des Infektionsrisikos in Räumen, in denen Kupferprodukte installiert sind [37].

Die Zahl der Kupferkomponenten in den einzelnen Räumen wurde während jedes Patienten-aufenthalts genau protokolliert. Aus den Ergebnissen dieser Untersuchung geht hervor, dass bei Patienten in einem Raum, der zu 75 % mit Kupferkomponenten ausgestattet war (bezogen auf die Oberflächenfläche), das Infektionsrisiko um 40,4 % geringer war (N=651, p=0,039) als in Räumen mit herkömmlicher Ausstattung [37]. Das Infektionsrisiko konnte um 61 % reduziert werden, wenn Patienten in einem "Kupferbett" in einem Kupferzimmer lagen (N=541, p=0,006). Für Patienten, die ihren gesamten Aufenthalt in einem vollständig mit Kupferoberflächen ausgestattetem Kupferzimmer verbrachten, wurde eine Verringerung des Infektionsrisikos von 69,1 % festgestellt (N=642, p=0,008) [37].

Es zeigt sich, dass durch das Ersetzen zentraler, häufig berührter Oberflächen durch Kupferkomponenten die mikrobielle Belastung verringert wird, was wiederum zu einem erheblichen Rückgang der Infektionsraten führt:

- Kupfer verringert die mittlere Zahl von Mikroben um 97 %.
- Auf den Kupferoberflächen wurden praktisch keine MRSA- oder VRE-Bakterien gefunden.
- Die Verringerung der mikrobiellen Belastung auf Kupferoberflächen erzielt kontinuierlich dasselbe Ergebnis wie eine Endreinigung.
- Der Einsatz von Kupferoberflächen führte zu einem Rückgang der Infektionsraten von 40 % bis 70 %.
- Kupfer besitzt eine kontinuierliche antimikrobielle Wirkung, die ohne Unterbrechung rund um die Uhr aktiv ist.

In einer separaten ambulanten Studie wurde nicht nur die Verringerung der mikrobiellen Belastung bestätigt, sondern auch ein Haloeffekt beobachtet - die reduzierte Kontamination in der Nähe von Kupferoberflächen. Die Kupferoberflächen senkten das Risiko einer Exposition gegenüber Umgebungsmikroben um 17 %[38].

Großbritannien

In Großbritannien leitete Professor Tom Elliott, beratender Mikrobiologe und stell-vertretender medizinischer Direktor am University Hospitals Birmingham NHS Foundation Trust, eine Studie im Selly Oak Hospital in Birmingham. Diese Studie fand in einer allgemeinen medizinischen Abteilung statt, die sowohl mit Kupfer- als auch mit Standardkomponenten ausgestattet war. Ziel war es, zu zeigen, dass Kupfer in der Lage war, als Teil der Maßnahmen zur Infektionsprävention die Umgebungskontamination zu verringern und das Ergebnis für die Patienten zu verbessern.

Die ersten Ergebnisse zeigten, dass Oberflächen aus kupferhaltigen Materialien eine Vielzahl von potenziell gefährlichen Mikroorganismen abtöten und so das Infektionsrisiko für Patienten, Besucher und Personal erheblich senken. Die aus den zehnwöchigen Probennahmen der drei Komponenten gewonnenen Daten zeichnen folgendes Bild: Auf den Kupferkomponenten konnten 90-100 % weniger Mikroorganismen gefunden werden als auf den gleichen Gegenständen aus Standardmaterialien (verchromtes Messing, Aluminium und Kunststoff) [39].

Prof. Elliott erläutert dieses Ergebnis: „Das bedeutet, dass das Infektionsrisiko verringert werden kann, weil wir wissen, dass die Verbreitung von Organismen über Oberflächen u. a. durch Berührung geschieht. Daher sind die Ergebnisse sehr aufschlussreich. Die Feststellung, dass sogar nach einem geschäftigen Tag auf einer Krankenhausstation, an dem die Oberflächen von vielen Menschen berührt wurden, 90 % bis 100 % dieser Organismen abgetötet werden, ist bemerkenswert. Dadurch erhalten wir unter Umständen eine weitere Lösung zur Eindämmung der Ausbreitung von Infektionen [32]."

Die für die klinische Studie installierten Kupferprodukte (Türbeschläge, Badezimmerarmaturen, Servierwagen und schwenkbare Betttische) wurden anhand der üblichen klinischen Praktiken und Reinigungsverfahren gereinigt. 24-36 Monate nach der Installation war nur eine leichte Oberflächenoxidation festzustellen.

Die zweite Phase der Studie umfasste die Probenahme auf allen Kupfer- und Kontrolloberflächen über einen Zeitraum von sechs Monaten, um weitere Daten zu erhalten. Die Ergebnisse stützten die früheren Erkenntnisse und zeigten eine geringere Kontamination auf den Kupferoberflächen im Vergleich zu den Kontrolloberflächen [39].

Chile

In Chile werden jedes Jahr 70.000 Krankenhausinfektionen gemeldet, von denen die meisten auf allgemeine Krankenhaus-Pathogene wie *S. aureus, P. aeruginosa* und *A. baumannii* zurückgehen. Auf der Intensivstation am Hospital del Cobre in Calama wurden in einer 30-wöchigen klinischen Studie umfassende mikrobielle Analysen durchgeführt [40].

990 Kupferoberflächen (Bettaufstehhilfen, Schwenkbare Bettklapptische, Bettgeländer, Besucherstühle, Infusionsständer, Touchscreens) aus 90 Zimmern wurden mit einer entsprechenden Zahl von Zimmern und Oberflächen, die „Nicht-Kupferobjekte“ enthielten, verglichen [40].

Die Ergebnisse aus dieser klinischen Studie zeigten nach zehn Wochen eine Verringerung der Mikroorganismen von ca. 90 % auf den Kupfergegenständen gegenüber den Kontrollgegenständen. Insgesamt sank die mikrobielle Belastung der untersuchten Mikrobenklassen. Darüber hinaus hielt die kontinuierliche antimikrobielle Aktivität des Kupfers während der gesamten Studiendauer an[40].

Kupfer verringerte die mikrobielle Belastung auf allen sechs getesteten Oberflächen deutlich, auf Bettgeländern um 91 %, Bettaufstehhilfen um 82 %, Klapptischen um 83 %, Armlehnen um 92 %, Touchscreens um 49 % und Infusionsständern um 88 % [40].

Die durchschnittliche mikrobielle Belastung in Räumen mit Berührungsoberflächen aus Kupfer war wesentlich geringer als in Räumen ohne Kupferoberflächen. Als mikrobieller Hauptbelastungsträger konnten Staphylococci in Analysen isoliert werden. Die Studie zeigt, dass die vorherrschende Staphylococcen-Belastung durch Kupfer wirksam reduziert werden konnte [40].

Versuche Mikrokupfer an der HS-OWL

Durch die aktuelle Diskussion um Nanopartikel und die daraus entstandene Abwehrhaltung der Gesellschaft gegenüber Nanopartikeln bzw. Produkten die Nanopartikel enthalten motiviert, reifte im Fachgebiert Chemie der Gedanke Mikrokupferpartikel zu entwickeln.

Im Rahmen einer Versuchsreihe wurde mikroskaliges Kupfer (Mikrokupfer) chemisch hergestellt. Ziel der Versuchsreihe war es, Mikrokupfer mit einer antibakteriellen Wirkung herzustellen, das wie in den zitierten Studien aus den USA, Großbritannien und Chile auf Oberflächen aufgebracht werden kann, um so die Keimbelastung zu reduzieren. Das hergestellte Mikrokupfer wurde vorweg mikroskopisch untersucht bevor die Oberflächenversuche zur Keimreduzierung gestartet wurden.

Mikroskopische Aufnahmen

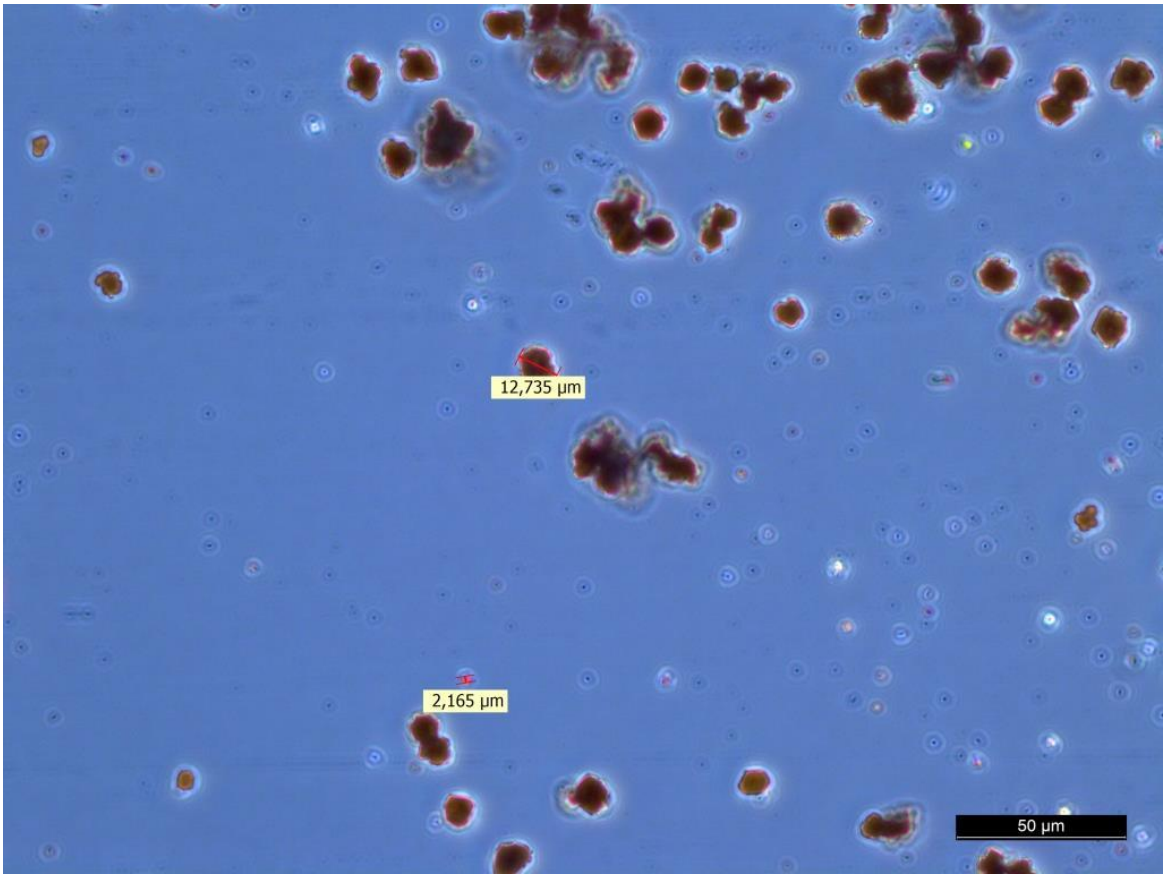

Abbildung 4: Mikrokupfer, eigene Herstellung, 1:400

Anmerkung: Abb. 4 und 5 wurden von Dipl. Biol. Heike Stromberg erstellt

Bei der mikroskopischen Untersuchung (Vergrößerung 1:400; trockene Probe; Präparat ohne Wasser) zeigte sich, dass das chemisch hergestellte Kupfer tatsächlich nur Größen im Mikrometerbereich bis etwa 20 µm erreicht (siehe Abb. 4)hat und somit keine Nanopartikel in der Probe enthalten sind.

Im Vergleich zu einer industriell gefertigten Mikrokupferprobe ergeben sich bei der mikroskopischen Untersuchung interessante Unterschiede. Das Mikroskop zeigt dass die Größe der industriell erhältlichen Kupferteilchen deutlich oberhalb von 20 µm liegt und sich optisch der Eindruck scharfkantiger, „gerupfter" Teilchen ergibt (siehe Abb. 5).

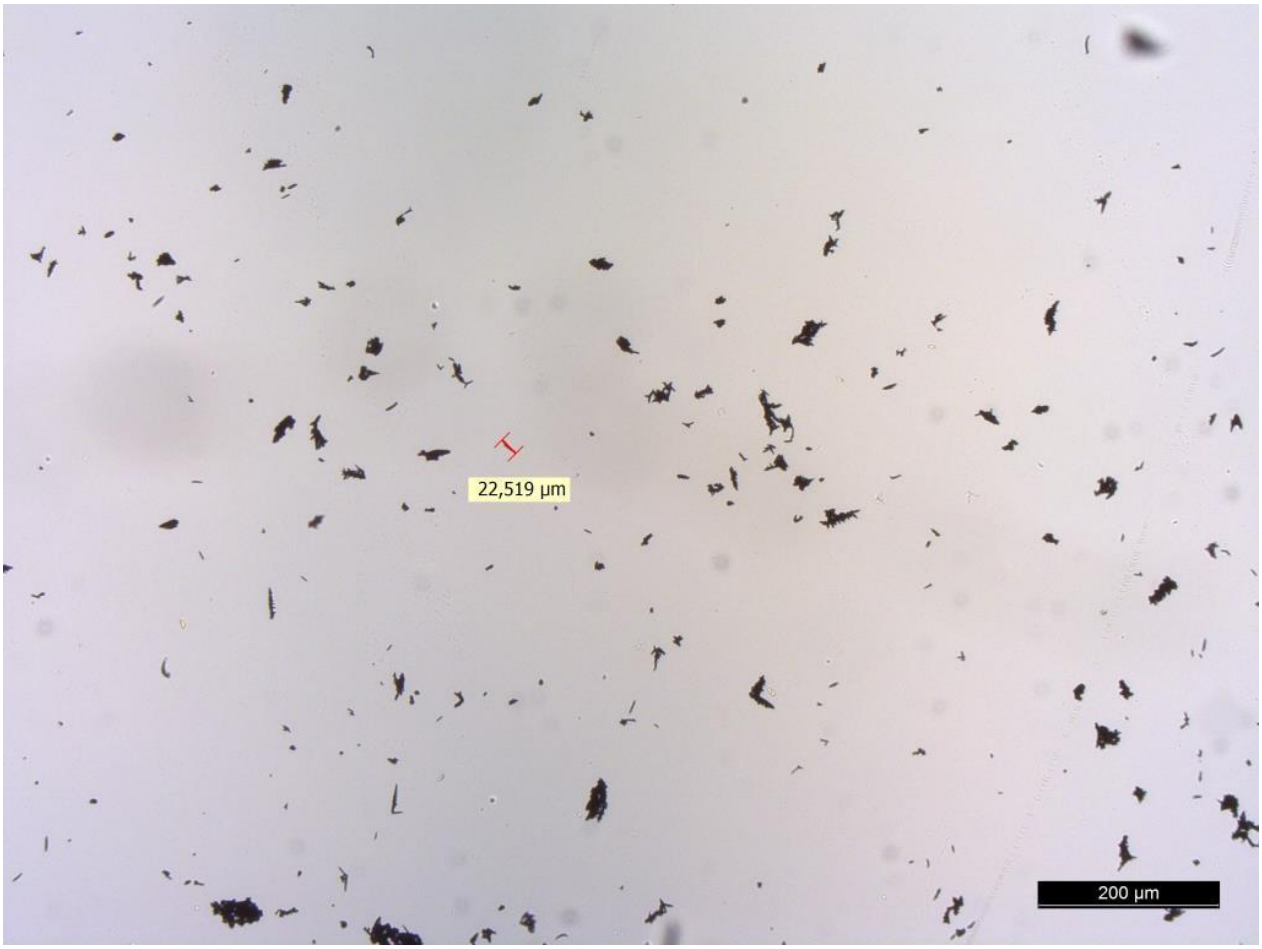

Abbildung 5: Industriell gefertigtes Mikrokupfer

Die industriell gefertigten Kupferteilchen zeigen eine eher eckige bzw. kantige, sogar fast schroffe Struktur, während die Mikrokupferteilchen aus dem Labor weiche, abgerundete Kanten zu haben scheinen und ein deutlich günstigeres Oberflächen-Volumenverhältnis aufweisen.

UV Absorption von mit Mikrokupfer dotierten Kunststoffen

Zur Überprüfung der optischen Eigenschaften des Mikrokupfers wurden mehrere Versuche mit Mikrokupfer in verschiedenen Kunststoffen durchgeführt. Dazu wurden jeweils Blindproben der Kunststoffe ohne Mikrokupferdotierung erstellt und mit Kunststoffproben, die einen bestimmten Kupferanteil aufwiesen, mittels UV-VIS-Spektroskopie verglichen. Bei der UV-VIS- Spektroskopie werden Elektronen durch die Bestrahlung mit elektromagnetischen Wellen verschiedener Frequenzen angeregt. Die Elektronen reagieren darauf mit der Absorption der elektromagnetischen Strahlung.

Die x-Achse eines UV-Graphen zeigt die verschiedenen Wellenlängenbereiche an. Die y-Achse gibt den Wert für die Extinktion an. Ist die Extinktion größer/gleich Eins, wird über 90% des eingestrahlten Lichts absorbiert. Zur Untersuchung der Kunststoffe wurden diese jeweils in eine UV-Küvette gegeben und im UV-Spektrometer analysiert. Die Ergebnisse der Analysen sind in den Abb. 6-8 zu sehen.

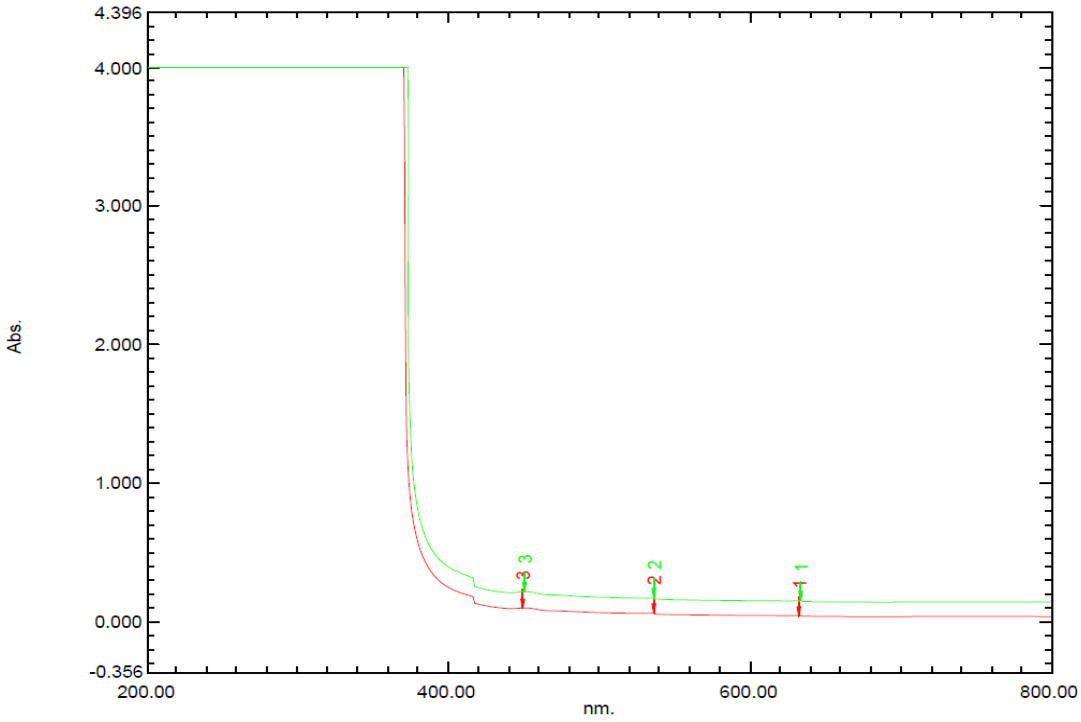

Abbildung 6: Epoxid mit 0,1% Mikrokupferdotierung

Abb. 6 zeigt die Extinktion des Epoxidblindwertes (rote Linie) und des Epoxids mit der Mikrokupferdotierung (grüne Linie). Es ist zu erkennen, das die Dotierung bei dem ausgewählten Epoxid nicht zur Veränderung der Extinktion führt. Die eingestrahlte Lichtenergie wird jeweils unterhalb einer Wellenlänge von ca. 380nm vollständig absorbiert.

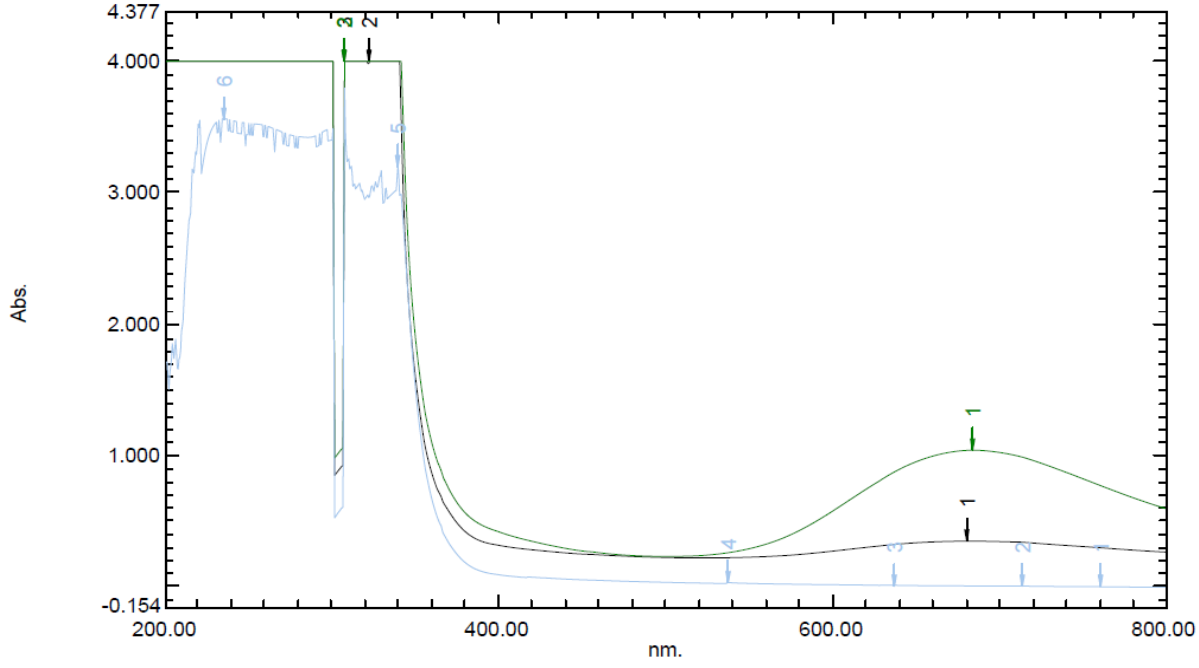

Abbildung 7: Polystyrol Blindwert, mit 0,1% Mikrokupferdotierung und 0,5% Mikrokupferdotierung

Abb. 7 zeigt die Extinktion des Polystyrolblindwertes (blaue Linie) und des Polystyrols mit einer 0,1% Mikrokupferdotierung (schwarze Linie) sowie einer 0,5% Mikrokupferdotierung (grüne Linie). Anders als beim Epoxid verändert die Mikrokupferdotierung die Extinktion des Polystyrols. Liegt die Extinktion beim Blindwert bei zirka 380nm, verschiebt die Dotierung mit 0,1% Mikrokupfer die Extinktion auf eine Wellenlänge von ca. 382nm. Die Dotierung mit 0,5% Mikrokupfer verschiebt die Extinktion des Polystyrols auf eine Wellenlänge von etwa 387nm. Bei beiden Dotierungen kann daher von einer vollständigen UV Absorption gesprochen werden.

Mikrobiologie

Zur Überprüfung der antibakteriellen Eigenschaften des Mikrokupfers wurden verschiedene Proben (Objektträger mit Polystyrolbeschichtung mit und ohne Mikrokupferzusatz sowie Ultraschallgele (UG) mit und ohne Mikrokupferzusatz) hergestellt und im Fachgebiet Mikrobiologie der Hochschule Ostwestfalen-Lippe untersucht.

Polystyrol mit Mikrokupferdotierung

Die Untersuchung der Objektträger erfolgte in Anlehnung an die ISO/DIS 22196 (Messung der antibakteriellen Aktivität auf Plastik und nicht-porösen Oberflächen). Zuerst wird eine Keimsuspension aus *E. coli* und *S. aureus* (Mischsuspension mit 5,2 * 10^6 KbE/ml) angesetzt. Der Objektträger wurde daraufhin in eine sterile Petrischale gelegt und mit 0,4 ml der Keimsuspension benetzt. Dann erfolgt die Inkubation der Objektträger für 24 Stunden bei 36 °C in einer Feuchtekammer. Nach der Inkubation wird die Keimsuspension in 10 ml CLP-Bouillion aufgenommen. Danach folgt ein 4-maliges aufziehen der Suspension mit der Pipette und abspülen der Probe vom Objektträger. Die anschließende 10-fache Serienverdünnung erfolgt in physiologischer NaCl-Lösung. Die Keimzahl wird mittels Gussplattenverfahren mit Standard-l- Nähragar in Doppelbestimmung ermittelt.

Ergebnis

Die Ergebnisse der Untersuchung zur Keimreduktion von *E. coli* und *S. aureus* durch Mikrokupfer in Polystyrol zeigen eine antibakterielle Wirkung im Untersuchungszeitraum von 24 Stunden. Ausgehend von der Keimzahl der Blindwerte (Probe 1-3 ohne Dotierung) bedingt das mit 0,1 % Mikrokupfer versehene Polystyrol eine reduzierende Wirkung auf die Keimzahl der Mikroorganismen unter die Nachweisgrenze von 10 KbE/ml in Suspension innerhalb von 24 Stunden (Abb.8).

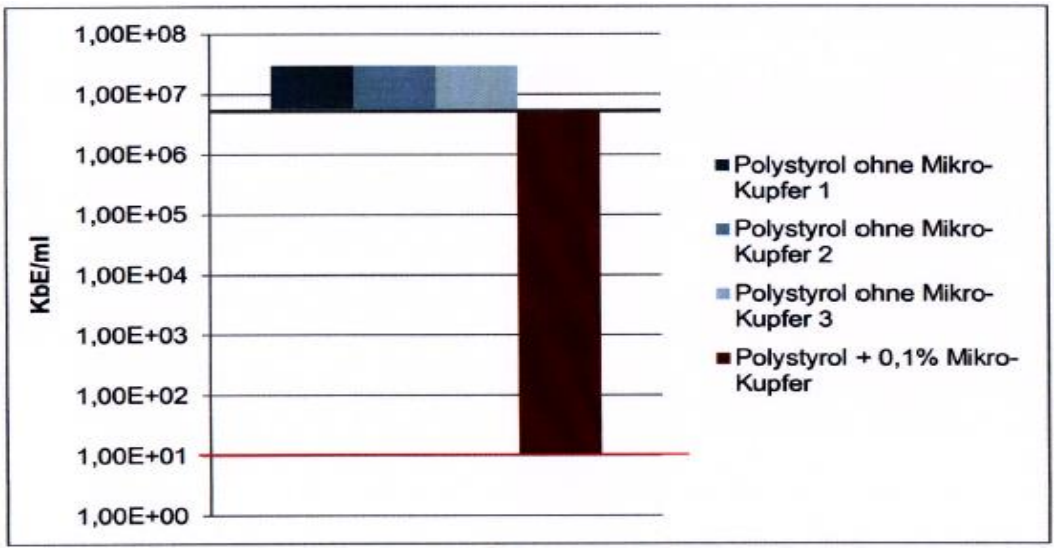

Abbildung 8: Keimreduktion durch Mikrokupfer

Ultraschallgele mit Mikrokupferdotierung

Die Untersuchung der Ultraschallgele erfolgte nach Ph. Eur. 7. Ausgabe, Grundwerk 2011. Es gab jeweils eine gesonderte Untersuchung der Gele mit dem industriell gefertigten Mikrokupfer und dem im Labor hergestellten Mikrokupfer. Durch den Vergleich der beiden Mikrokupferproben sollte festgestellt werden, ob beide antimikrobiell wirken und es Unterschiede in der Keimreduktionsrate gibt.

Mikrobiologische Untersuchung chemisch hergestelltes Mikrokupfer

- 10 g je UG (Blindwert, 0,03% Mikrokupfer, 0,3% Mikrokupfer) werden in sterile, braune Schraubgläser abgefüllt
- Keimzahlbestimmung der unbehandelten Gele (Blindwerte) mittels Tropfplattenverfahren auf Standard-l-Nähragar
- Inkubation bei 30 °C für 24 – 48 Stunden
- Gele werden mit einer *E. coli* und *S. aureus* Keimsuspension beimpft (Ausgangskeimzahl ca. 10^6 KbE/ml) und bei Raumtemperatur dunkel gelagert
- Direkt nach der Beimpfung der Gele bzw. nach 1,2,3,4 und 5 Tagen Keimzahlbestimmung eines Aliquots mittels Tropfplattenverfahren auf Standard-l-Nähragar, Inkubation bei 30 °C für 24-48 Stunden

Ergebnisse

Zur Beurteilung der keimreduzierenden Wirkung von Mikrokupfer in Ultraschallgelen wurden mit *E. coli* und *S. aureus* beimpfte Ultraschallgele mit und ohne Dotierung über einen Zeitraum von 5 Tagen untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tab. 3 zu sehen.

Tabelle 3: Keimreduzierende Wirkung im Labor erstelltes Mikrokupfer

Keim	UG Blind	UG + 0,03 % Mikrokupfer	UG + 0,3 % Mikrokupfer
E. Coli	-	+	+++
S. Aureus	-	+	+++

Zeichenerklärung:

(-) Keine Reduktion der Keimzahl im Untersuchungszeitraum von 5 Tagen

(+) Reduktion der Keimzahl unter die Nachweisgrenze von 10^2 KbE/g innerhalb von 4 Tagen

(+++) Reduktion der Keimzahl unter die Nachweisgrenze von 10^2 KbE/g innerhalb von 24 Stunden

0,03 % Mikrokupfer im Ultraschallgel bedingte innerhalb von 4 Tagen eine Keimzahlreduktion von *E. coli* und *S. aureus* unter die Nachweisgrenze von 10^2 KbE/g. 0,3 % Mikrokupfer im Ultraschallgel zeigt eine schnelle, deutliche antimikrobielle Wirkung. Die Keimzahlen der inkoluierten Keime lagen bereits nach 24 Stunden unter der Nachweisgrenze von 10^2 KbE/g. Die unbehandelten Ultraschallgele zeigten im Untersuchungszeitraum keinen reduzierenden Einfluss auf *S. aureus* und *E. coli.*

Mikrobiologische Untersuchung industriell gefertigtes Mikrokupfer

- 10 g je UG (Blindwert, 0,03% Mikrokupfer, 0,3% Mikrokupfer) werden in sterile, braune Schraubgläser abgefüllt
- Keimzahlbestimmung der unbehandelten Gele (Blindwerte) mittels Tropfplattenverfahren auf Standard-l-Nähragar
- Inkubation bei 30 °C für 24 – 48 Stunden
- Gele werden mit einer *E. coli* und *S. aureus* Keimsuspension beimpft (Ausgangskeimzahl ca. 10^6 KbE/ml) und bei Raumtemperatur dunkel gelagert
- Direkt nach der Beimpfung der Gele und nach Tag 1,Tag 2 und Tag 6 Keimzahlbestimmung mittels Tropfplattenverfahren auf Standard-l-Nähragar, Inkubation bei 30 °C für 24-48 Stunden

Ergebnisse

Zur Beurteilung der keimreduzierenden Wirkung von industriell gefertigtem Mikrokupfer in Ultraschallgelen wurden mit *E. coli* und *S. aureus* beimpfte Ultraschallgele mit und ohne Dotierung über einen Zeitraum von 6 Tagen untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tab. 4 zu sehen.

Tabelle 4 Keimreduzierende Wirkung industriell gefertigtes Mikrokupfer

	E. coli				*S. aureus*			
	0 d	**1 d**	**2 d**	**6 d**	**0 d**	**1 d**	**2 d**	**6 d**
Gel Blind	-	-	-	-	-	-	-	-
Gel + 0,01 % Mikrokupfer	-	-	-	+++	-	-	+	+++
Gel + 0,03 % Mikrokupfer	-	-	+	+++	-	+	+	+++
Gel + 0,1 % Mikrokupfer	-	-	+	+++	-	+	+++	+++

Zeichenerklärung:

(-) Keine Reduktion der Keimzahl im Untersuchungszeitraum von 5 Tagen

(+) Reduktion der Keimzahl > 1 log-Stufe

(+++) Reduktion der Keimzahl unter die Nachweisgrenze von 10^2 KbE/g

Während im Ultraschallgel ohne Mikrokupferdotierung die inokulierte Keimzahl von 10^6 KbE/g E. coli und S. aureus im Untersuchungszeitraum von 6 Tagen (Lagerung im Dunkeln bei Raumtemperatur) konstant blieb, war in dem mit Mikrokupfer dotierten UG eine deutliche Keimzahlreduktion von ≥ 4 log-Stufen zu beobachten.

Der Vergleich der Mikrokupferproben zeigt, das sowohl das industriell gefertigte Mikrokupfer als auch das im Labor erstellte Mikrokupfer antibakterielle Eigenschaften aufweisen. In den mikrobiellen Tests erwies sich das von uns chemisch erstellte Mikrokupfer als deutlich wirksamer im Vergleich zum industriell gefertigten Mikrokupfer.

Quellen

Nr.	Quelle	Letzter Zugriff
[1]	http://de.wikipedia.org/wiki/Kupfer	29.10.13
[2]	http://www.lenntech.de/pse/elemente/cu.htm	29.10.13
[3]	http://www.kupfer.de/wissenswertes	29.10.13
[4]	http://de.wikipedia.org/wiki/Kupfer#Chemische_Eigenschaften	29.10.13
[5]	http://www.lenntech.de/element-und-wasser/kupfer-und-wasser.htm	30.10.13
[6]	http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/selected_results/13082	30.10.13
[7]	http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/02/03H061/t2.pdf	31.10.13
[8]	http://de.slideshare.net/agesnews/kupfer-im-pflanzenschutz-auswirkungen-der-kupferbelastung-auf-bodenlebewesen-britta-moebeshansen-ages	05.11.13
[9]	http://www.toxcenter.org/stoff-infos/k/kupfer.pdf	18.11.13
[10]	http://www.gifte.de/Chemikalien/kupfer%28i%29oxid.htm	18.11.13
[11]	http://www.kupferinstitut.de/front_frame/frameset.php3?client=1&parent=14&idcat=14&lang=1&sub=yes	19.11.13
[12]	http://www.kup.at/kup/pdf/249.pdf	19.11.13
[13]	http://www.vitalstoff-lexikon.de/Spurenelemente/Kupfer/	19.11.13
[14]	http://leistungsverzeichnis.labor-gaertner.de/details.aspx?id=2085	19.11.13
[15]	http://www.seilnacht.com/Lexikon/29Kupfer.htm#p	19.11.13
[16]	http://de.wikipedia.org/wiki/Metallothionein	02.12.13
[17]	https://online.medunigraz.at/mug_online/wbabs.getDocument?pThesisNr=16558&pAutorNr=59460&pOrgNR=1	03.12.13
[18]	http://edoc.ub.uni-muenchen.de/10999/1/Nilewski_Maike.pdf	03.12.13
[19]	http://de.wikipedia.org/wiki/Superoxiddismutase	03.12.13
[20]	http://de.wikipedia.org/wiki/Cytochrom-c-Oxidase	04.12.13
[21]	http://de.wikipedia.org/wiki/Caeruloplasmin	04.12.13
[22]	http://de.wikipedia.org/wiki/Kupfermangel	06.12.13
[23]	http://www.medi-learn.de/seiten/errata/pdf/PL1_Seite_22.pdf	06.12.13
[24]	http://www.webmed.ch/Orthosubstanzen/Orthodosierung_3_Spu.htm	06.12.13
[25]	http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=565&lng=DE	10.12.13
[26]	http://de.wikipedia.org/wiki/Menkes-Syndrom	10.12.13
[27]	http://www.medizin1.uk-erlangen.de/e68/e131/e1196/e1055/index_ger.html	10.12.13
[28]	http://de.wikipedia.org/wiki/Morbus_Wilson	07.01.14
[29]	http://www.bs-lab.at/index_html?sc=10722&task=paramdetail&ID=148	20.01.14
[30]	http://www.medizin1.uk-erlangen.de/e68/e131/e1196/e1055/index_ger.html	20.01.14
[31]	http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00253-010-2640-1/fulltext.html	30.01.14
[32]	http://www.antimicrobialcopper.com/de/wissenschaft/antimikrobielle-wirkung.aspx	22.01.14
[33]	http://edoc.ub.uni-muenchen.de/2455/1/Zitzler_Juergen.pdf	21.02.14
[34]	http://de.wikipedia.org/wiki/Atomradius	26.02.14
[35]	http://www.antimicrobialcopper.com/media/72219/musc-icaac.pdf	02.03.14
[36]	http://www.antimicrobialcopper.com/media/69841/shea-poster-us-results.pdf.	02.03.14
[37]	http://www.antimicrobialcopper.com/media/149621/aha-health-forum-copper-reduces-infection-risk-2011.pdf	02.03.14
[38]	http://www.antimicrobialcopper.com/media/103390/2010-poster-hirsch-et-al.pdf	03.03.14
[39]	http://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(09)00408-3/abstract	03.03.14
[40]	http://www.antimicrobialcopper.com/media/69120/ific-poster-calama-results.pdf	03.03.14