



## Arbeitsanleitung


# Nor-/ Metanephrin in Urin ELISA

Enzymimmunoassay  
für die quantitative Bestimmung von  
**Normetanephrin und Metanephrin**  
in Urin



**REF** EA614/192

 2 x 96

 2 – 8 °C

DLD Gesellschaft für Diagnostika und medizinische Geräte mbH  
Adlerhorst 15•22459 Hamburg•Telephone: +49-40-555 87 10•Fax: +49-40-555 87 111  
Internet: <http://www.dld-diagnostika.de> • E-Mail: [contact@dld-diagnostika.de](mailto:contact@dld-diagnostika.de)



## Inhaltsverzeichnis

1. Klinische Bedeutung und Testprinzip	Seite	4
2. Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	Seite	4
3. Lagerung und Haltbarkeit	Seite	5
4. Inhalt des Testbestecks	Seite	5
5. Probengewinnung und Aufbewahrung	Seite	6
6. Vorbereitung der Reagenzien und Proben	Seite	7
7. Testdurchführung ELISA	Seite	9
8. Auswertung und Beurteilung	Seite	11
9. Testcharakteristik	Seite	12
10. Literatur	Page	13
Pipettierschema Probenvorbereitung	Seite	14
Pipettierschema ELISA	Seite	15

## Verwendete Symbole

 In-Vitro-Diagnostikum

 Inhalt

 Chargenbezeichnung


 Hersteller


 Bestellnummer

 CE markiert

 Verwendbar bis

 Temperaturbegrenzung

 Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen

 Gebrauchsanweisung beachten

## Gefahrensymbole

 Gefahr

 Achtung

## 1. Klinische Bedeutung und Testprinzip

Normetanephrin und Metanephrin sind physiologische Abbauprodukte der Catecholamine, aus denen sie durch das Enzym Catechol-O-methyltransferase (COMT) gebildet werden. Sie werden in erhöhten Konzentrationen beim Phäochromozytom, Ganglioneurom und verwandten Tumoren neurogenen Ursprungs gefunden.

Der Nor-/Metanephrin-ELISA-Kit enthält Reagenzien für die quantitative Bestimmung von derivatisiertem Metanephrin und Normetanephrin in humanem Urin. Durch Hydrolyse werden konjugiertes Metanephrin und Normetanephrin im Urin in das freie Metanephrin und Normetanephrin umgewandelt.

Die Derivatisierung erfolgt während der Probenvorbereitung. Dabei werden Metanephrin und Normetanephrin durch das Acylierungsreagenz quantitativ in N-Acyl-Metanephrin und N-Acyl-Normetanephrin umgewandelt.

Der Nor-/Metanephrin-ELISA ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay. An die Festphase gebundenes und freies, in Lösung befindliches Antigen konkurrieren um eine definierte Anzahl von Antikörper-Bindungsstellen. Wenn sich das System im Gleichgewicht befindet, wird der nicht-gebundene Antigen-Antikörper-Komplex in einem Waschschrift entfernt und der entsprechend gebundene Komplex mittels eines Peroxidase-Konjugats nachgewiesen und über den Umsatz von Tetramethylbenzidin (TMB) bestimmt. Die TMB/POD-Reaktion wird gestoppt und bei 450 nm gemessen. Die Konzentration des an die Festphase gebundenen Antigen-Antikörper-Komplexes ist umgekehrt proportional zur Konzentration des Antigens in der Probe.

## 2. Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur zur in vitro Diagnostik. Nur für den Gebrauch durch Fachpersonal.
- Alle Reagenzien dieses Testbestecks, die tierischen Ursprungs sind, stammen von gesunden Tieren, die von einer zertifizierten Stelle untersucht wurden. Die Reagenzien sollten trotzdem wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Einzelne Komponenten verschiedener Chargen und Testbestecke sollten nicht ausgetauscht werden. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten.
- Beim Handhaben der Reagenzien, Kontrollen und Patientenproben sind die gängigen Laborsicherheitsrichtlinien und die Gute Laborpraxis zu beachten.
- Während der Testdurchführung Kittel, Einmal-Handschuhe und Schutzbrille tragen.
- Ein Teil der Komponenten dieses Testbestecks enthalten Gefahrstoffe und sind kennzeichnungspflichtig. Diese Komponenten tragen das entsprechende Gefahrensymbol auf ihrem Etikett. Weitere Informationen befinden sich in *4. Inhalt des Testbestecks* und auf den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern.
- Kontakt mit einzelnen Reagenzien vermeiden, diese können Reizungen und Verätzungen verursachen.


- Abfälle sollten nach den staatlichen und örtlichen Umweltschutzregularien entsorgt werden.
- Die Richtlinien zur Qualitätskontrolle im medizinischen Laboratorium bezüglich des Mitführens von Kontrollproben und/oder Poolproben, sollten beachtet werden.


### 3. Lagerung und Haltbarkeit

Der Kit ist bei Lagerung zwischen 2 - 8 °C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach Anbruch ist der Kit bis zum Verfallsdatum haltbar. Die Haltbarkeit der gebrauchsfertigen Reagenzien ist auf dem jeweiligen Flaschenetikett angegeben. Die Haltbarkeit und die Lagerung der vorbereiteten Reagenzien werden unter 6.1 geregelt.

Die Reagenzien müssen vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur gebracht und sofort nach Gebrauch wieder kühl gestellt werden.

### 4. Inhalt des Testbestecks

4.1	<b>Mikrotiterstreifen</b> 8 Vertiefungen, einzeln abbrechbar, beschichtet mit Metanephrin oder Normetanephrin	<b>STRIPS-MN</b> <b>STRIPS-NMN</b>	2 x 12 Stück
4.2	<b>Standards 1 - 6</b> 1 ml, gebrauchsfertig	<b>CAL 1 - 6</b>	6 Fläschchen
4.3	<b>Kontrolle 1 &amp; 2</b> 1 ml, gebrauchsfertig; Bereich: Siehe Q.C.-Zertifikat	<b>CON 1 &amp; 2</b>	2 Fläschchen
4.4	<b>Acylierungspuffer</b> 3,5 ml, gebrauchsfertig, reizend	<b>ACYL-BUFF</b>	1 Fläschchen
			Achtung
4.5	<b>Acylierungsreagenz</b> 1,75 ml, lyophilisiert, mit Solvent auflösen	<b>ACYL-REAG</b>	3 Fläschchen
4.6	<b>Metanephrin-Antiserum</b> 5,5 ml, gebrauchsfertig, blau gefärbt, Kaninchen-anti-N-Acyl-Metanephrin	<b>AS-MN</b>	1 Fläschchen
4.7	<b>Normetanephrin-Antiserum</b> 5,5 ml, gebrauchsfertig, gelb gefärbt, Kaninchen-anti-N-Acyl-Normetanephrin	<b>AS-NMN</b>	1 Fläschchen
4.8	<b>Enzymkonjugat</b> 21 ml, gebrauchsfertig, Anti-Kaninchen-IgG-Peroxidase	<b>CONJ</b>	1 Fläschchen
4.9	<b>Waschpuffer</b> 20 ml, Konzentrat (50x)	<b>WASH</b>	2 Fläschchen

4.10	<b>Substrat</b> 21 ml TMB-Lösung, gebrauchsfertig	<b>SUB</b>	1 Fläschchen
4.11	<b>Stopplösung</b> 21 ml, gebrauchsfertig, enthält 0,3 M Schwefelsäure	<b>STOP</b>	1 Fläschchen
4.12	<b>Hydrolyse - Röhrchen</b> für die Hydrolyse	<b>HYDRO-TUBE</b>	100 Stück
4.13	<b>Salzsäure</b> 12 ml, gebrauchsfertig, enthält 0,1 M Salzsäure	<b>HCL</b>	1 Fläschchen
4.14	<b>Solvent</b> 6 ml, gebrauchsfertig, enthält DMF und DMSO, giftig	<b>SOLVENT</b>	1 Fläschchen
			Gefahr, Achtung
4.15	<b>Folie</b> gebrauchsfertig	<b>FOIL</b>	4 Stück

Weiter werden benötigt (nicht im Kit enthalten):

- Pipetten für 10, 20, 25, 50, 100 und 500 µl
- Mehrkanalpipette oder Waschgerät
- Multipette
- Destilliertes Wasser
- Mikrotiterplattenphotometer (450 nm)
- Horizontalschüttler
- Wasserbad oder Heizblock
- Zentrifuge

## 5. Probengewinnung und Aufbewahrung

Es kann sowohl Spontanurin als auch Sammelurin verwendet werden. Zur Gewinnung des Sammelurins wird der gesamte Urin, der während einer Periode von 24 Stunden ausgeschieden wird, in einem Behälter, der 10 - 15 ml 6 M Salzsäure als Konservierungsmittel enthält, gesammelt. Direktes Sonnenlicht sollte vermieden werden. Das Gesamtvolumen wird bestimmt und ein Aliquot für die Messung entnommen. Bei Verdacht auf eine Nierenfunktionsstörung sollte auch eine Kreatininbestimmung durchgeführt werden. Proben, die nicht sofort in dem Test eingesetzt werden, können bei -20 °C mindestens 6 Monate gelagert werden.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von Proben sollte vermieden werden.

**Urine vor Gebrauch mischen und zentrifugieren.**

## 6. Vorbereitung der Reagenzien und Proben

### 6.1 Vorbereitung der Reagenzien

#### **Acylierungs-Reagenz** **ACYL-REAG**

Inhalt des Fläschchens mit 1,75 ml Solvent lösen und mindestens 5 Minuten auf den Rollenmischer oder ähnlichem Schüttler mischen. Das Acylierungsreagenz sollte unmittelbar vor Testbeginn frisch angesetzt werden und ist dann mind. 3 Stunden stabil. Durch die 2. und 3. Flasche im Kit ist der ELISA in zwei oder drei Ansätzen teilbar. Wenn der Kit in einem Ansatz verbraucht wird, den aufgelösten Inhalt von zwei Fläschchen poolen. Nach Gebrauch ist das Restreagenz zu verwerfen.

#### **Waschpuffer** **WASH**

Inhalt des Fläschchens mit destilliertem Wasser auf 1000 ml auffüllen, kurz mischen. Der verdünnte Waschpuffer muss für den späteren Gebrauch bei 2 - 8 °C gelagert werden und bleibt so für 4 Wochen verwendbar. Für eine Lagerung bis zum Verfallsdatum muss der verdünnte Waschpuffer bei -20 °C eingefroren werden.

Alle anderen Reagenzien sind gebrauchsfertig.

## 6.2 Probenvorbereitung (Hydrolyse und Acylierung)

Die Reagenzien auf Raumtemperatur bringen. Es wird empfohlen, Doppelbestimmungen durchzuführen.

1. **10 µl der Standards, Kontrollen und Proben** in entsprechend wasserfest beschrifteten **Hydrolyseröhrchen** pipettieren.
2. **100 µl Salzsäure** in alle Röhrchen pipettieren.
3. Röhrchen gut verschließen, mischen (vortexen) und 30 Minuten bei 90 -100 °C im Wasserbad oder auf einem Heizblock inkubieren.
4. Röhrchen auf Raumtemperatur abkühlen, kurz zentrifugieren, um anhaftende Tropfen zu vereinigen, Deckel verwerfen.

**ACHTUNG: Sollen das freie Metanephrin und das freie Normetanephrin bestimmt werden, entfällt die Inkubation bei 90 °C (Schritt 3 + 4).**

5. **25 µl Acylierungspuffer** in alle Röhrchen pipettieren, kurz im Gestell schütteln.
6. Bitte beachten: Solvent reagiert mit vielen Plastikmaterialien, z.B. Plastikschrälchen. Solvent reagiert nicht mit normalen Pipettenspitzen und Glasgefäßen.  
Bitte Multipetten oder Ähnliches verwenden, das gelöste Acylierungsreagenz direkt aus dem Fläschen aufziehen und pipettieren.

**20 µl gelöstes Acylierungsreagenz** in alle Röhrchen pipettieren.

7. Gut mischen (vortexen) und 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
8. **500 µl destilliertes Wasser** in alle Röhrchen pipettieren und gut mischen (vortexen).

**50 µl werden im Metanephrin-, 20 µl im Normetanephrin ELISA eingesetzt.**



## 7. Testdurchführung

### 7.1

<b>Metanephrin- ELISA</b>
-------------------------------

1. **50 µl acylierte Standards, Kontrollen und Proben** in die entsprechenden Vertiefungen der Metanephrin Mikrotiterstreifen (blau) pipettieren.
2. **50 µl Metanephrin-Antiserum** in alle Vertiefungen pipettieren, Blaufärbung entsteht.
3. Platte mit Folie abkleben und 1 Stunde bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
4. Vertiefungen entleeren, mit ca. **300 µl verdünntem Waschpuffer** füllen und wieder entleeren. Anschließend die Mikrotiterstreifen umgedreht auf eine saugfähige Unterlage (Papierhandtuch) legen und kurz ausklopfen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen. Diesen Vorgang insgesamt 4 mal durchführen. Alternativ kann auch ein Waschgerät verwendet werden.
5. **100 µl Enzymkonjugat** in alle Vertiefungen pipettieren.
6. 20 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
7. Waschen: Wie unter Punkt 4. beschrieben.
8. **100 µl Substrat** in alle Vertiefungen pipettieren.
9.  $20 \pm 5$  Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
10. **100 µl Stopplösung** in alle Vertiefungen pipettieren, kurz mischen.
11. Platte im Photometer bei 450 nm (Referenzwellenlänge zwischen 570 und 650 nm) innerhalb von 15 Minuten messen.

## 7.2

<b>Normetanephrin- ELISA</b>
----------------------------------

1. **20 µl acylierte Standards, Kontrollen und Proben** in die entsprechenden Vertiefungen der Normetanephrin Mikrotiterstreifen (gelb) pipettieren.
2. **50 µl Normetanephrin-Antiserum** in alle Vertiefungen pipettieren, Gelbfärbung entsteht.
3. Platte mit Folie abkleben und 1 Stunde bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
4. Vertiefungen entleeren, mit ca. **300 µl verdünntem Waschpuffer** füllen und wieder entleeren. Anschließend die Mikrotiterstreifen umgedreht auf eine saugfähige Unterlage (Papierhandtuch) legen und kurz ausklopfen, um alle Flüssigkeitsreste zu entfernen. Diesen Vorgang insgesamt 4 mal durchführen. Alternativ kann auch ein Waschgerät verwendet werden.
5. **100 µl Enzymkonjugat** in alle Vertiefungen pipettieren.
6. 20 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
7. Waschen: Wie unter Punkt 4. beschrieben.
8. **100 µl Substrat** in alle Vertiefungen pipettieren.
9. 20 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) auf einem Horizontalschüttler bei mittlerer Schüttelfrequenz mischen.
10. **100 µl Stopplösung** in alle Vertiefungen pipettieren, kurz mischen.
11. Platte im Photometer bei 450 nm (Referenzwellenlänge zwischen 570 und 650 nm) innerhalb von 15 Minuten messen.

## 8. Auswertung und Beurteilung

Standard:		1	2	3	4	5	6
<b>Metanephrin</b>	ng / ml	0	20	60	250	800	4.000
	nmol / l	0	101	304	1.268	4.056	20.280
<b>Normetanephrin</b>	ng / ml	0	30	100	300	1.000	4.000
	nmol / l	0	164	546	1.638	5.460	21.840

Umrechnung:

Metanephrin: 1 ng / ml = 5,07 nmol / l

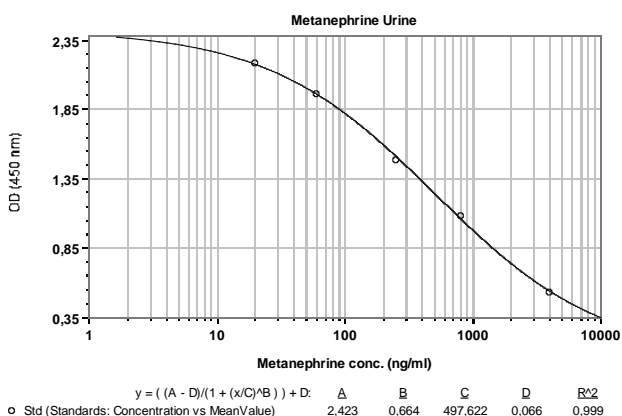
Normetanephrin: 1 ng / ml = 5,46 nmol / l

Die ODs (optische Dichten) der Standards (linear) werden gegen die entsprechenden Konzentrationen der Standards (logarithmisch) aufgetragen.

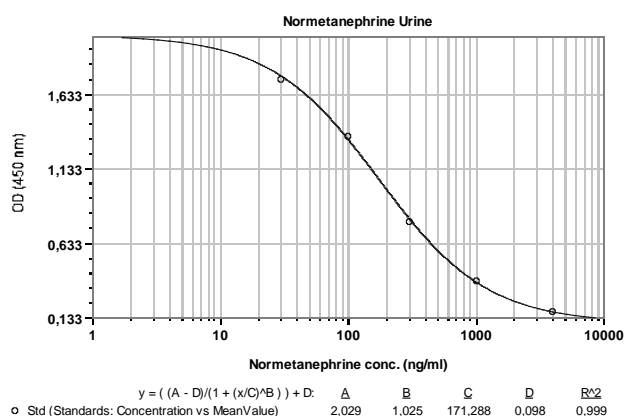
Bei Verwendung eines Computerprogramms wird die 4-Parameter-Analyse empfohlen (Alternativ: Cubic-Spline oder Logit-Log).

Die Konzentrationen der Proben können direkt aus der Standardkurve in ng / ml abgelesen werden.

Die Abbildungen zeigen typische Beispiele:



Metanephrin Urin ELISA



Normetanephrin Urin ELISA

**Qualitätskontrolle:** Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn die Kitkontrollen innerhalb der Bereiche entsprechend des Qualitätskontrollzertifikates liegen. Ansonsten sollte der Test wiederholt werden.

## 9. Testcharakteristika

### 9.1 Referenzbereiche

Die angegebenen Referenzbereiche gelten lediglich als Richtlinie. Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzbereiche erstellt.

Metanephrin	Normetanephrin
< 350 µg/Tag	< 600 µg/Tag

### 9.2 Sensitivität

	Untere Nachweisgrenze	Berechnung
Metanephrin	4 ng/ml	OD <sub>Cal1</sub> - 2xSD
Normetanephrin	10 ng/ml	OD <sub>Cal1</sub> - 2xSD

### 9.3 Spezifität (Kreuzreaktivitäten)

Substanz	Metanephrin (%)	Normetanephrin (%)
Metanephrin	100	0,775
Normetanephrin	0,430	100
3-Methoxytyramin	< 0,025	0,282
Adrenalin	0,875	< 0,022
Noradrenalin	< 0,025	1,360
Tyramin	0,001	< 0,001
Dopamin	< 0,025	< 0,022
Homovanilinsäure	< 0,001	< 0,001
Vanilinmandelsäure	< 0,001	< 0,001
L-Dopa	< 0,001	< 0,001
L-Tyrosin	< 0,001	< 0,001

### 9.4 Wiederfindung nach Spiken

	Bereich (ng/ml)	Mittelwert (%)	Bereich (%)
Metanephrin	10 - 952	107	86 - 124
Normetanephrin	14 - 952	110	92 - 121

### 9.5 Linearität (Wiederfindung nach Verdünnung mit Standard 1)

	Bereich (ng/ml)	Höchste Verd.	Mittelwert (%)	Bereich (%)
Metanephrin	85 - 2134	1 : 21	90	77 - 106
Normetanephrin	52 - 1243	1 : 21	93	79 - 102

### 9.6 Reproduzierbarkeit

	Bereich (ng/ml)	Intra-Assay-Vk	Bereich (ng/ml)	Inter-Assay-Vk
Metanephrin	110 - 414	10,3 - 9,9 %	208 - 1964	10,1 - 14,8 %
Normetanephrin	63 - 1323	7,2 - 4,8 %	120 - 2963	5,3 - 10,1 %

### 9.7 Methodenvergleich

	Vergleichsmethode	Korrelation
Metanephrin	HPLC	Y = 0,95 x HPLC - 1; R = 0,99; N = 23
Normetanephrin	HPLC	Y = 0,85 x HPLC + 28; R = 1,00; N = 23

## 9.8 Kalibrierung

Die Kalibrierung erfolgt durch die Zugabe einer definierten Metanephrin- und Normetanephrin Stammlösung. Die Richtigkeit der Methode wurde durch den Vergleich mit den Referenzbereichen (9.1) und den Methodenvergleichen (9.7) festgestellt.

## 9.9 Grenzen der Methode

Das Ergebnis des Nor/Metanephrin Elisa ist im Zusammenhang mit weiteren diagnostischen Verfahren und der Anamnese und der daraus resultierenden Fragestellung zu sehen.

Proben, die oberhalb des höchsten Standards gemessen wurden, müssen mit Standard 1 verdünnt und erneut bestimmt werden.

## 9.10 Interferenzen

Nicht angesäuerte Sammelurine nicht verwenden.

## 10. Literatur

- Unger, N.; Pitt, C.; Petersenn, S.; et al. (2006):  
**Diagnostic value of various biochemical parameters for the diagnosis of pheochromocytoma in patients with adrenal mass**  
European Journal of Endocrinology 154 409–417
- Bravo, E. (2004):  
**Pheochromocytoma: Current Perspectives in the Pathogenesis, Diagnosis, and Management**  
Arq Bras Endocrinol Metab 48/5:746-750
- Candito, M.; Billaud, E.; Chauffert, M.; et al. (2002):  
**Biochemical diagnosis of pheochromocytoma and neuroblastomas**  
Ann Biol Clin (Paris). 2002 Jan-Feb;60(1):15-36.
- Lenders, J.; Pacak, K.; McClellan, M.; et al. (2002)::  
**Biochemical Diagnosis of Pheochromocytoma Which Test Is Best?**  
Jama, March 20, 2002-Vol 287, No. 11
- Heron, E.; Chatellier, G.; Billaud, E.; et al. (1996):  
**The Urinary Metanephrine-to-Creatinine Ratio for the Diagnosis of Pheochromocytoma**  
Ann Intern Med. 125 : 300-303

## Pipettierschema Probenvorbereitung (Metanephrin und Normetanephrin)

	Standard	Kontrolle	Urin
<b>Standard 1 - 6</b> $\mu\text{l}$	10		
<b>Kontrolle 1 &amp; 2</b> $\mu\text{l}$		10	
<b>Urin</b> $\mu\text{l}$			10
<b>Salzsäure</b> $\mu\text{l}$	100	100	100

vortexen

30 Minuten bei 90 - 100 °C inkubieren \*

Kurz zentrifugieren, Deckel verwerfen

<b>Acyl. Puffer</b> $\mu\text{l}$	25	25	25
-----------------------------------	----	----	----

Kurz schütteln

<b>Acyl. Reagenz</b> $\mu\text{l}$	20	20	20
------------------------------------	----	----	----

vortexen

15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren

<b>Dest. Wasser</b> $\mu\text{l}$	500	500	500
-----------------------------------	-----	-----	-----

vortexen

**50  $\mu\text{l}$  im Metanephrin ELISA einsetzen**

**20  $\mu\text{l}$  im Normetanephrin ELISA einsetzen**

\* entfällt bei der Bestimmung des freien Metanephrin und Normetanephrin

## Pipettierschema Metanephrin ELISA

		Standard	Kontrolle	Probe
<b>Acyl. Standard</b>	µl	50		
<b>Acyl. Kontrolle</b>	µl		50	
<b>Acyl. Probe</b>	µl			50
<b>Metanephrin Antiserum</b>	µl	50	50	50

Platte mit Folie abkleben

1 Stunde bei Raumtemperatur schütteln

4 x Waschen

<b>Enzymkonjugat</b>	µl	100	100	100
----------------------	----	-----	-----	-----

20 Minuten bei Raumtemperatur schütteln

4 x Waschen

<b>Substrat</b>	µl	100	100	100
-----------------	----	-----	-----	-----

20 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur schütteln

<b>Stopplösung</b>	µl	100	100	100
--------------------	----	-----	-----	-----

Messung der Extinktion bei 450 nm

## Pipettierschema Normetanephrin ELISA

	Standard	Kontrolle	Probe
<b>Acyl. Standard</b> $\mu\text{l}$	20		
<b>Acyl. Kontrolle</b> $\mu\text{l}$		20	
<b>Acyl. Probe</b> $\mu\text{l}$			20
<b>Normetanephrin Antiserum</b> $\mu\text{l}$	50	50	50

Platte mit Folie abkleben

1 Stunde bei Raumtemperatur schütteln

4 x Waschen

<b>Enzymkonjugat</b> $\mu\text{l}$	100	100	100
------------------------------------	-----	-----	-----

20 Minuten bei Raumtemperatur schütteln

4 x Waschen

<b>Substrat</b> $\mu\text{l}$	100	100	100
-------------------------------	-----	-----	-----

20  $\pm$  5 Minuten bei Raumtemperatur schütteln

<b>Stopplösung</b> $\mu\text{l}$	100	100	100
----------------------------------	-----	-----	-----

Messung der Extinktion bei 450 nm