

sionen, in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur, in den bei Zimmertemperatur veresterten Ansätzen um 20% weniger Protoporphyrin gefunden wurde. Protoporphyrin allein wird auch bei -20° in 36 Stdn. quantitativ in Methylester überführt. Die Ausbeute für Protoporphyrin (Extraktion, Chromatographie) beträgt bei $1\text{ }\mu\text{g}$ 60%, bei $10\text{ }\mu\text{g}$ 70% und bei 5–10 mg (einschließlich Veresterung) gravimetrisch bestimmt über 80%.

Die Verfasser sind Dr. AMY BENSON, Department of Chemical Pathology, University College Hospital Medical School, London, und Dr. R. J. PORRA, C. S. I. R. O., Division of Plant Industry, Canberra (Australia) für die Überlassung von Uroporphyrin-III Testsubstanz, Dr. JUNE LASCELLES, Department of Bacteriology, University of California, Los Angeles, für die Überlassung von Coproporphyrin-III Testsubstanz zu Dank verpflichtet. Die Messung der Absorptionsmaxima wurde mit freundlicher Unterstützung durch Herrn Prof. Dr. H. WITZEL, Biochemische Abteilung des Chemischen Instituts der Universität Marburg, durchgeführt.

Literatur

1. FALK, J. E., Porphyrins and Metalloporphyrins, Elsevier, Amsterdam-London-New York (1964). — 2. SCHWARTZ, S., M. H. BERG, I. BOSSENMAIER und H. DINSMORE, Methods of Biochemical Analysis, Bd. VIII, Interscience, New York (1960). — 3. SCHLENKER, F. S. und C. L. KITCHELL, Amer. J. Clin. Path. 29, 593 (1958). — 4. SCHLENKER, F. S., N. A. TAYLOR und C. L. KITCHELL, Amer. J. Clin. Path. 44, 189 (1965). — 5. FRANZINI, C. und M. L. SOLA, Minerva med. 57, 112 (1966). — 6. RIMINGTON, C. und S. L. SVEINSSON, Scand. J. Clin. Laborat. Invest. 2, 209 (1950). — 7. RIMINGTON, C., Biochem. J. 75, 620 (1960). — 8. WITH, T. K., Scand. J. Clin. Laborat. Invest. 7, 193 (1955). — 9. DOSS, M. und W. MANNHEIM, Experientia (Basel), 23, 31 (1967). — 10. DEMOLE, E., J. Chromatogr. (Amsterdam), 1, 24 (1958). — 11. MANNHEIM, W. und M. DOSS, Z. Naturforsch. 22b, 359 (1967). — 12. MANNHEIM, W. und M. DOSS, in Vorbereitung. — 13. GOLDRICK, B. und J. HIRSCH, J. Lipid Res. 4, 482 (1963). — 14. FILIPPINI, L., Dtsch. med. Wschr. 91, 959 (1966). — 15. FALK, J. E. und A. BENSON, Biochem. J. 55, 101 (1953). — 16. CONFORD, P. A. D. und A. BENSON, J. Chromatogr. (Amsterdam) 10, 141 (1963). — 17. JENSEN, J., J. Chromatogr. (Amsterdam) 10, 236 (1963). — 18. BRUGSCH, J., Zschr. exper. Med. 103, 518 (1938). — 19. WATSON, C. J., J. Clin. Invest. 15, 327 (1936).

Dr. M. Doss

355 Marburg, Pilgrimstein 2

Quantitative Erfassung und klinische Bedeutung der Betaninurie

VON M. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT, M. TH. AIELLO und M. V. AIELLO¹⁾

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin und Kriminalistik der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig)

(Eingegangen am 17. Februar 1967)

Es ist seit langem bekannt, daß gelegentlich nach Genuß von Roten Rüben (*Beta vulgaris*) rot gefärbter Urin ausgeschieden wird. Dies kann den Verdacht einer Hämaturie oder der Ausscheidung bestimmter Medikamente erwecken. Bei dem ausgeschiedenen roten Farbstoff handelt es sich um Betanin. Während bisher angenommen wurde, daß nicht alle Personen „Ausscheider“ sind, sondern das Phänomen abhängig sei vom pH-Wert des Urins, von genetischen Gegebenheiten, Permeabilitätsstörungen der Niere, allergischen Erscheinungen, bestimmten Anämieformen oder auch dem Farbstoffgehalt der Roten Rüben bzw. der aufgenommenen Rübenmenge, konnten wir bei allen untersuchten gesunden Personen mit einem empfindlichen säulenchromatographischen Verfahren nach Rote Rüben-Aufnahme Betanin, wenn auch z. T. in sehr geringer Menge im Harn nachweisen. Bei ein- und derselben Person zeigten sich von Tag zu Tag starke Schwankungen sowohl bezüglich der ausgeschiedenen Menge als auch der Konzentration. Tägliche Aufnahme über 47–66 Tage führte zu keiner nennenswerten Änderung etwa im Sinne einer Fermentadaptation. Damit läßt sich die Einteilung in Betanin-„Ausscheider“ und -„Nicht-ausscheider“ nicht aufrechterhalten, die Fähigkeit zur Resorption und Ausscheidung von Betanin scheint vielmehr grundsätzlich gegeben zu sein, wenn auch quantitative Unterschiede auftreten. Selbst bei stärkerer Ausscheidung von Betanin im Harn konnte im Serum Betanin nicht nachgewiesen werden.

It has been known for a long time that the urine may sometimes become red after the ingestion of beetroot (*Beta vulgaris*). This recalls the condition of hematuria or the excretion of certain drugs. The excreted red pigment is betanin. It has been hitherto assumed that not all persons are „excreters“, but that the phenomenon depends on the pH of the urine, genetic predisposition, faulty permeability in the kidneys, allergy, certain forms of anaemia, or even the pigment content of the beet or the amount of beet eaten. With the aid of a sensitive column chromatographic procedure, however, we have detected betanin, albeit sometimes in very small amounts, in the urine of all investigated healthy persons after the ingestion of beet. Each individual shows marked variations from day to day in both the amount and concentration of excreted pigment. Daily ingestion for 47–66 days caused no significant changes, and there was no indication of enzyme adaptation. Thus the classification into betanin „excreters“ and „non-excreters“ is false; the ability to absorb and excrete betanin appears to be subject to more fundamental factors, even though there are quantitative variations. Betanin could not be detected in the serum, even when the urinary betanin excretion was very high.

Betanin im Harn

Es ist seit langem bekannt, daß manche Personen nach Genuß von Roten Rüben (*Beta vulgaris*) rot gefärbten Urin ausscheiden. Dies Phänomen kann den Verdacht

einer Hämaturie oder einer Aufnahme bestimmter Medikamente erwecken. Von vornherein wurde vermutet, daß die Rotfärbung durch Betanin, den Farbstoff der Roten Rüben, verursacht wird.

Die Konstitution von Betanin ist erst 1965 durch die Arbeitsgruppe um WYLER und DREIDING (1) endgültig geklärt worden. Danach handelt es sich nicht — wie

¹⁾ Die Arbeit wurde mit Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt, wofür wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen.

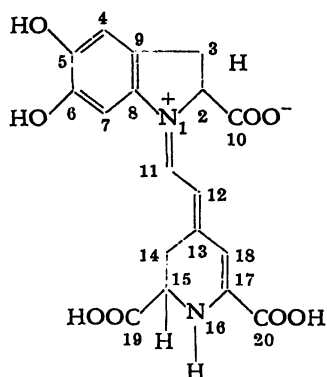


Abb. 1

Strukturformel des Betanidin nach WILCOX, WYLER und DREIDING 1965 (1)

früher angenommen — um ein Anthocyan (Grundsubstanz der meisten Blütenfarbstoffe), sondern um eine Verbindung mit völlig andersartiger Konstitution, nämlich Betanidin (Abb. 1), das nach SCHUDEL (2), AINLEY und ROBINSON (3), PUCHER, CURTIS und VICKERY (4, 5), REZNIK (6), WYLER und Mitarbeiter 1959 (7) sowie SCHMIDT, BECHER und HÜBNER (8) glykosidisch an Glucose gebunden ist. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT und MENDNER (1965) (9) zeigten papierchromatographisch, säulenchromatographisch und spektrophotometrisch (vgl. M. TH. AIELLO (10)) die Übereinstimmung des Farbstoffes in Ausscheiderharn mit unverändertem Betanin.

Für das Auftreten einer Betaninurie werden sehr unterschiedliche Faktoren verantwortlich gemacht:

Schon HESS und MEYERS (1919) (11) hatten beobachtet, daß bestimmte gesunde Kinder nach Aufnahme von Roten Rüben einen roten Farbstoff im Urin ausschieden, während bei anderen die Aufnahme ungewöhnlich großer Rüben-Mengen oder von Rübensaft symptomlos blieb. Sie führten dies auf eine individuelle Variation in der Absorption des Farbstoffes zurück. Auch RUH und GARVIN (12) berichteten 1924 über die Ausscheidung von rot gefärbtem Urin bei 30 Kindern nach Aufnahme von Roten Rüben. Eine Wiederholung des Phänomens gelang ihnen nur in 8 von 15 Fällen. Sie schlossen daraus, daß weder eine individuelle Variation in der Absorption des Farbstoffes, noch eine Idiosynkrasie für das Phänomen verantwortlich sei, sondern der Farbstoffgehalt der Rüben und die aufgenommene Rübenmenge. CATHALA, MARTROU und GRAS (13) beobachteten 1939 ein gesundes Kind mit Betaninurie ohne weitere klinische Symptome und konnten bei nochmaliger Gabe von Roten Rüben das Phänomen reproduzieren. Sie stellten fest, daß der Urin dabei stark sauer war. Nach Hervorrufen eines stark sauren Urins bei 3 anderen Kindern (ketogene Diät, Calciumchlorid und Phosphorsäure; pH 4,6 bzw. 4,4) bemerkten sie nach Gabe von 125 g Roter Rüben in 2 Fällen gleichfalls eine Betaninurie. Deshalb nahmen sie an, daß Betaninurie nur bei stark saurem Urin zu beobachten sei, während bei einem normalen pH-Wert von etwa 6 der Farbstoff zerstört werde. — Fälle von Betaninurie bei gesunden Kindern und Erwachsenen wurden auch 1936 von MATHESON (14), 1938 von HALLÉ und GIRARD (15) und 1942 von JACOBSEN (16) beschrieben.

Andere Autoren halten die Ausscheidung von Betanin nach Genuß von Roten Rüben für eine erblich bedingte Eigenschaft. ALLISON und McWHIRTER (1956) (17) kamen zu dieser Annahme aufgrund der Untersuchung von 104 Einzelpersonen sowie 15 Familien mit insgesamt 32 Kindern. Unter Berücksichtigung der Familiendaten nahmen sie einen rezessiv autosomalen Erbgang an. Die Häufigkeit der Ausscheider-Eigenschaft wurde für die englische Bevölkerung mit 10% angegeben. Ähnliche Untersuchungen führten SALDANHA und Mitarbeiter 1960 (18) und 1961 (19) u. a. bei 18 Familien mit

insgesamt 111 Kindern einer holländischen Einwanderergruppe in Brasilien durch. Hierbei konnten sie eine Ausscheiderhäufigkeit von etwa 30% feststellen. Allerdings fanden sich einige Ausnahmen von der aufgestellten Erbregel. Bei Absenken des pH-Wertes im Urin bis nahe pH 5 bei der Nichtausscheidergruppe trat keinerlei Rotfärbung nach Rote Rüben-Genuß auf. Bei der Ausscheidergruppe mußte der pH-Wert auf 8 gesteigert werden, um die Rotfärbung zum Verschwinden zu bringen. Daraus schließen sie, daß der pH-Wert die Ergebnisse nicht wesentlich beeinflußt. Eine Abhängigkeit von Alter und Geschlecht wurde gleichfalls nicht gefunden, wohl aber eine gewisse Rassenabhängigkeit: Sie geben eine Ausscheiderhäufigkeit von 44,2% bei Japanern, 32% bei Negern und 30,8% bei Weißen an.

Der Annahme einer erblichen Bedingtheit der Ausscheidung von Betanin im Harn nach Genuß von Roten Rüben stehen eine größere Anzahl von Veröffentlichungen seit dem Jahr 1914 gegenüber, die das Phänomen in Zusammenhang mit pathologischen Erscheinungen bringen. Der erste derartige Bericht stammt von JERVIS (1914) (20). Er beschreibt das Auftreten bei einem 7 Jahre alten Mädchen, das daneben Kopfschmerzen, Leibschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Fieber und Acetonausscheidung zeigte, nachdem sie am Vortag eine große Menge Rote Rüben gegessen hatte. JERVIS sieht die Ursache für das schwere Erscheinungsbild in der Aufnahme von Roten Rüben. POOLE (1927) (21) gab einem 6-jährigen Jungen, der nach einer Scharlachinfektion wiederholt rot gefärbten Urin ausgeschieden hatte, nach einem Rote-Rüben-freien Intervall 3 mal täglich Rote Rüben. Der Urin des Patienten zeigte bis 24 Std. nach der letzten Rote Rüben-Aufnahme einen rosa bis tiefroten Farbton. Die Betanin-Ausscheidung soll Folge einer Permeabilitätsstörung der Nieren nach vorhergegangener Nephritis sein. LAUR (1949) (22) führte Versuche unter Gabe von $\frac{1}{4}$ l Saft oder 150 g geriebenen Roten Rüben bei Patienten mit den folgenden Erkrankungen durch: Hepatitis, Lebercirrhose, Nierenkrankheit, Enteritis, Typhus, Dyspepsie, Subileus, Gastritis, Ulcus, Magenresektion, Colitis mucosa, Ruhr, Ascariasis, Perniciosa, Alterskachexie, Lungen-Tbc, Pernitonal-Tbc, Darm-Tbc, Morbus Boeck, Pneumonie, Thyreotoxikose, Vagotonie, Urticaria, Polyarthritis, Sepsis, Herzinsuffizienz, Tumoren, Morbus Hodgkin. Es zeigte sich, daß das Phänomen der Betaninurie nicht eindeutig parallel ging mit einer einzelnen faßbaren Stoffwechselstörung oder -Leistung. Das Gleiche ließ sich für eine größere Reihe von Medikamenten sagen, die während der Versuche appliziert wurden, und keinen nachweislichen Einfluß auf die Betaninurie erkennen ließen. Mehrere Patienten mit bestimmten Darmerkrankungen (Typhus in der 2. Woche; Enterocolitis) erhielten jeweils $\frac{1}{4}$ l wäßrige Betaninlösung (Preßsaft) und zeigten eine Rotfärbung des Harns. Mit dem Eintreten der klinischen Besserung sistierte die Rotfärbung und blieb an den folgenden Tagen aus. Weitere 9 Typhusranke in der 3.—5. Woche zeigten bei jeweils 3 Tage lang durchgeführten Versuchen keine Harnfärbung. In der Normalisierung der Darmflora, wie sie sich der klinischen Besserung entsprechend vollziehen dürfte, sieht LAUR aber nur einen sekundären, die Abheilung der Schleimhaut begleitenden Vorgang. Primär entscheidend sei die Permeabilität der resorbierenden Darmwand. Eine erhöhte Durchlässigkeit der Dünndarmwand für Betanin nimmt er nicht nur bei Erkrankungen der Darmwand selbst oder mit engen Beziehungen zu ihr an, sondern auch in einem auffallend hohen Prozentsatz von Malignomen verschiedenster Art.

ZINDLER und COLOVOS (1950) (23) berichteten über 28 Fälle von Betaninurie. 26 traten in Verbindung mit Allergie gegen Rote Rüben auf und 2 schienen an die Aufnahme von Roten Rüben zusammen mit Nahrungsmitteln, die als Allergene bekannt waren, geknüpft zu sein. Sie deuten das Phänomen als Folge einer Resorption von Betanin über den Intestinaltrakt während der allergischen Reaktion und nehmen an, daß gesunde Individuen höchstens nicht nachweisbare Betaninmengen resorbieren, was sie durch weitere Versuche erhärteten. Auch nach Gabe von Ammoniumchlorid, wobei ein pH-Wert des Urins von 4,5 erreicht wurde, konnten sie bei völlig gesunden Kontrollpersonen keine Betaninausscheidung erreichen. LUKE und WATSON (1963) (24) berichteten über eine Patientin, die nach einer Rote Rüben-Mahlzeit am Abend zuvor das Bild eines schweren anaphylaktischen Schocks mit gleich-

zeitiger Betaninurie bot. Auch WATSON, LUKE und INALL (1963) (25) erwähnen einen entsprechenden Fall. Versuche mit Rote Rüben-Mahlzeiten bei Gesunden (58), Patienten mit verschiedenen Erkrankungen (48) sowie verschiedenen Anämieformen (7) führten in allen drei Gruppen in etwa 13% der Fälle zu einer Betaninausscheidung im Harn. Patienten mit penicillärer Anämie, Eisenmangelanämie und Malabsorptionssyndrom dagegen zeigten Betaninurie in etwa 46, 39 bzw. 49% der Fälle. Bei Personen mit Eisenmangel, die noch keine Eisenpräparate erhalten hatten, betrug die Häufigkeit sogar 80%. Am niedrigsten lag die Rate der Ausscheider bei anämischen Patienten, die eine Eisentherapie erhielten. Daraus schließen die Autoren, daß Betaninurie in der Zeit des Eisenhungers auftritt und daß u. U. ein Wettstreit zwischen Eisen und Betanin für eine bestimmte Substanz (Apoferitin?) vorliegt, bei dem Eisen bevorzugt wird. Auch die Betaninausscheidung bei den 13% gesunder Personen glauben sie auf die fluktuierende Natur der Eisenresorption bei normalen Personen zurückführen zu können. Daneben gäbe es auch die Möglichkeit des Vorkommens einer Betaninurie bei idiopathischen Enteropathien.

Alle genannten Autoren beurteilten das Vorliegen einer Harnverfärbung nach rot nur visuell und setzten einen nicht gefärbten Harn mit einer fehlenden Betaninausscheidung gleich. Die meisten verwendeten zur qualitativen Sicherung die schon von SCHUDEL (2) beschriebene Eigenschaft des Betanins, im alkalischen Milieu einen gelben Farbton anzunehmen und bei Wiederansäuern seine rote Farbe wiederzugewinnen. Einige, wie z. B. ZINDLER und COLOVOS (23), sicherten eine Betaninausscheidung im Urin auch spektrophotometrisch. Viele der aufgeführten Versuchsergebnisse und Deutungsversuche widersprechen einander. Der Gedanke lag nahe, dies auf die zum Teil sehr groben Methoden zum Nachweis einer Betaninausscheidung im Harn zurückzuführen. GELDMACHER-V. MALLINCKRODT und MENDNER (9) hatten deshalb ein empfindliches Verfahren zur Prüfung auf Betanin im Harn ausgearbeitet:

Hierzu werden 20 ml des filtrierten, ungefähr neutralen Harns ohne weitere Vorbereitung auf eine mit Al_2O_3 sauer gefüllte Chromatographiesäule gegeben. Betanin wandert in einer relativ scharf begrenzten rotvioletten Zone nach unten und wird dabei angereichert.

Damit führten sie Versuche bei 60 erwachsenen gesunden Personen durch, die Leerharn sammelten, abends 250 g gekochte Rote Rüben aßen und auch den Morgenharn zur Untersuchung brachten. Der pH-Wert lag bis auf zwei Ausnahmen stets bei 6. Bei keinem der vor der Mahlzeit gelassenen Harne war hierbei eine dem Betanin entsprechende Zone festzustellen. Im Morgenharn war bei *allen* Versuchspersonen Betanin nachweisbar, selbst wenn der Harn bei visueller Betrachtung ungefärbt erschien. Bei der Untersuchung einiger starker Ausscheider während mehrerer Wochen in längeren Zeitabständen konnte nur je einmal bei zwei Personen, wohl infolge alkalischer Harnreaktion (Cystitis) keine Ausscheidung festgestellt werden, ebenso je einmal bei 3 weiteren, was mit der Einnahme von Tabletten wegen leichteren Unwohlseins zusammenfiel.

Hiernach waren *alle* untersuchten gesunden Personen in der Lage, nach Rote Rüben-Aufnahme Betanin im Harn auszuscheiden, wenn auch in verschiedener Menge oder Konzentration. Danach muß die Ausscheidung von Betanin im Harn weder genetisch bedingt, noch ab-

hängig von einem stark sauren pH-Wert des Urins, allergischen Reaktionen, Nieren- oder Darmerkrankungen oder bestimmten Anämieformen sein. Sie scheint vielmehr die Regel zu sein, obwohl erhebliche Unterschiede in der ausgeschiedenen Betaninmenge sowie seiner Konzentration bestehen. Diese Annahme wurde durch Versuche weiter gesichert.

Zur *qualitativen* Sicherung einer Betaninausscheidung im Harn diene dabei seine Indikatoreigenschaft sowie die Säulenchromatographie an Al_2O_3 (vgl. hierzu (9)). Für eine direkte spektrophotometrische quantitative Bestimmung war die ausgeschiedene Betaninkonzentration selbst bei starker Ausscheidung praktisch immer zu gering.

Zur *halbquantitativen* Bestimmung eignete sich eine Weiterentwicklung des von MENDNER (26) beschriebenen säulenchromatographischen Verfahrens. Versuche, die in der Säule sichtbare Betaninfraction spezifisch zu eluieren und sodann eine spektrophotometrische Messung durchzuführen, oder störende Harnpigmente vorher auf der Säule mechanisch abzutrennen und anschließend eine Messung durchzuführen, führten zu keinem empfindlichen Verfahren (10). Dagegen ließ sich das folgende einfache und sehr schnell arbeitende Verfahren anwenden:

Die neutrale Harnprobe wurde nach Filtration auf eine mit Aluminiumoxyd sauer (GUILINI) gefüllte Säule ($0,5 \times 10$ cm) gegeben. Sodann wurde die Harnmenge festgestellt, die durchtropfen mußte, bis der violette Betaninring zum ersten Mal deutlich sichtbar war. Die hierzu erforderliche durchlaufende Harnmenge wurde für jede Probe wiederholt bestimmt; sie betrug maximal 20 ml, in denen noch 7–8 μg Betanin erkannt werden konnten. Die Betaninmenge wurde dann an einer Eichkurve abgelesen, die auf die folgende Weise gewonnen worden war: Wir stellten aus Leerharn durch Zusatz von kristallisiertem Betanin Harnproben her, die 50 bis 750 μg Betanin in 100 ml enthielten und arbeiteten in der eben beschriebenen Weise. Den für jede Betaninkonzentration erforderlichen Urindurchlauf in ml (Mittelwert aus 3 Einzelbestimmungen) trugen wir gegen die Betaninkonzentration ($\mu\text{g}/100$ ml) auf. An der erhaltenen Eichkurve konnte eine Betaninkonzentration bis etwa 40 $\mu\text{g}/100$ ml Harn abgelesen werden¹⁾. Aufgrund der Gesamtharnmenge konnte auch die in jeder Harnprobe ausgeschiedene Gesamtbetaninmenge ermittelt werden. Mit dieser Methode wurden die folgenden Untersuchungen durchgeführt.

Betanin im Harn

Zeitlicher Verlauf der Betaninausscheidung nach Aufnahme von 250 g gekochter Roter Rüben

13 gesunde Personen im Alter von 14–47 Jahren (11 ♂, 2 ♀) sammelten am Morgen eine Urinprobe (Leerwert) und nahmen sodann nüchtern 250 g gekochte Rote Rüben zu sich. Anschließend wurde in möglichst

¹⁾ Als Testsubstanz diente kristallisiertes Betanin (K-Salz des Glykosids), das uns freundlicherweise von Herrn Prof. O. TH. SCHMIDT, Heidelberg, zur Verfügung gestellt wurde.

Tab. 1
Betaninausscheidung im Harn bei 13 Versuchspersonen nach einmaliger Gabe von 250 g Roter Rüben;
der höchste Stundenwert ist kursiv gesetzt

Ausgeschiedene Betaninmenge in μg während der									
1. Std.	2. Std.	3. Std.	4. Std.	5. Std.	6. Std.	7. Std.	8. Std.	9. Std.	ersten sieben Stunden
148	108	69	98	39	39	39			532
117	608	456	150	62	62	62			1517
158	600	458	326	306	306	306	306	306	2458
158	262	296	292	232	232	232	48	48	1704
	210	115	82	82	105	105	105	0	799
0	82	86	35	0					203
0	115	240	126	92	58	58	0		689
0	25	82	92	54	54	0			307
0	0	100	80	0	0				180
	65	48	15	15	0				143
	0		58	46			0		104
	100	92	48	48	0				240
0	0	0	0	0	0	0			0

Tab. 2
Betaninmenge und Betaninkonzentration im Harn von 10 Versuchspersonen bis zu 4 Stunden nach einmaliger Gabe von 250 g Roter Rüben.
kursiv = größte ausgeschiedene Betaninmenge in 1 Stunde; unterstrichen = größte Betaninkonzentration

1. Stunde			2. Stunde			3. Stunde			4. Stunde		
Harnmenge ml	Betanin μg	Betanin $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	Harnmenge ml	Betanin μg	Betanin $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	Harnmenge ml	Betanin μg	Betanin $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	Harnmenge ml	Betanin μg	Betanin $\mu\text{g}/100\text{ ml}$
110	297	270	90	270	300	55	138	250	0	0	0
25	31	125	30	75	250	25	68	270	25	68	270
140	245	175	60	255	425	149	536	360	105	263	250
65	146	225	36	108	300	25	68	270	51	98	190
55	116	210	162	607	375	152	456	300	50	150	300
62	150	225	60	351	585	54	316	585	109	545	495
75	157	210	104	262	250	110	297	270	nicht gemessen	233	
0	0	0	100	210	210	55	116	210	27	68	250
0	0	0	80	68	85	50	88	175	30	75	250
0	0	0	55	148	270	44	122	270	76	132	175

Tab. 3
Betaninausscheidung im Harn bei mehrmaliger Rote Rüben-Aufnahme im Abstand von mindestens 8 Tagen

		Ausgeschiedene Betaninmenge in μg während der							
Versuchsperson	Versuch Nr.	1. Std.	2. Std.	3. Std.	4. Std.	5. Std.	6. Std.	7. Std.	8. Std.
A	1	30	60	60	50	14	0	0	
	2	34	70	65	65				
	3	150	115	150	85	180			
B	1	130	325	400	260				
	2	115	610	450	150	65	65		
	3	80	100	225	330	100	100	100	
C	1	18	80	70	22	5			
	2	40	105	55	0				
	3	250	384	400	110				
D	1	0	0	0	0	0	0		
	2	10	25	52	60	90	70		
	3	0	110	175	140				
E	1	0	0	0	0	0			
	2	0	0	0	0	0			
	3	150	110	75	98	38	38		
F	1	0	0		56		32		0
	2	0	0		20	0	0	0	
	3	106	216	324	206	56	38	30	25
	4			290	150	72	65	46	26
	5	120	242	366	160	36	0		
G	1	72	148	122	132	48	44	35	34
	2	156	262	298	244	232	232	232	
	3	150	150	172	104	104			
	4	34	68	60	110	54	48		
	5	0	74	148	0	0			
H	1	32	176	140	66	105	0		
	2	0	15	0	0	0			
	3	0	28	48	70	60	24		
	4	32	41	84	116	64			
	5	22	48	64	88	84	42		

1-stündigen Abständen durch Miktion Harn gewonnen. Der pH-Wert der Proben lag stets zwischen 6 und 7. Nach Durchführung der Indikatorprobe auf Betanin in sichtbar rot gefärbten Harnen und gegebenenfalls Neutralisation wurde sofort säulenchromatographisch der Betaningehalt festgestellt (der Betaningehalt nimmt schon innerhalb einiger Stunden deutlich ab) und die jeweils ausgeschiedene Gesamt-Betaninmenge ermittelt

(Tab. 1). Bei 12 der untersuchten Personen konnte Betanin im Harn gefunden werden. In einem Fall war mit unserer Methode kein Betanin zu ermitteln, was aber auch so gedeutet werden kann, daß der Gehalt unter $40\text{ }\mu\text{g}/100\text{ ml}$ lag; diese Versuchsperson schied in späteren Versuchen meßbare Betaninmengen aus. Das Maximum der Betaninausscheidung (bezogen auf die Betaninmenge) lag einmal in der ersten, fünfmal in der

zweiten, viermal in der dritten und zweimal in der vierten Stunde nach der Mahlzeit. Die in den ersten 7 Std. ausgeschiedene Gesamtmenge an Betanin lag zwischen 0 und 2,46 mg. Nach dieser Zeit war in den meisten Fällen die meßbare Ausscheidung beendet. Bei Versuchsperson 3 allerdings war noch nach insgesamt 18 Std. Betanin im Harn nachweisbar.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde bei 10 der Versuchspersonen nach Aufnahme von 250 g Roten Rüben unter den oben genannten Versuchsbedingungen und zusätzlicher Fettkarenz während 24 Std. vorher die Betaninausscheidung über 4 Std. verfolgt, wobei aufgrund der gelassenen Harnmenge die pro Std. ausgeschiedene Betaninmenge und Betaninkonzentration bestimmt wurden (Tab. 2). Das Maximum der Betaninausscheidung deckte sich nicht immer mit der höchsten Betaninkonzentration, sondern lag neunmal früher und einmal später. Eine geringe Betaninausscheidung ist nicht gleichbedeutend mit einer niedrigen Betaninkonzentration.

Viele der in Tabelle 1 und 2 aufgeführten Harnproben erschienen bei visueller Bewertung ungefärbt, obwohl Betanin in nicht unbeträchtlicher Menge enthalten war. Zusatzversuche ließen erkennen, daß je nach der Eigenfarbe des Harns eine Betaninkonzentration von etwa 75–750 µg/100 ml Urin eben als Rotfärbung erkannt wird.

Wiederholte Bestimmung der Betaninausscheidung im Harn in größeren zeitlichen Abständen

Die Zeitabstände betrugen dabei mindestens 8 Tage, um eine etwaige Fermentadaptation zu vermeiden. Übrige Versuchsbedingungen wie vorher. Die wiederholte Aufnahme von Roten Rüben bei ein- und derselben Person wurde in zwei Gruppen durchgeführt. Die erste Gruppe bestand aus 5 gesunden erwachsenen Personen (A–E), die je dreimal im Abstand von etwa 14 Tagen untersucht wurden, die zweite Gruppe aus drei gesunden erwachsenen Personen (F–H), die in 5, mindestens eine Woche auseinander liegenden Versuchen getestet wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 wiedergegeben. Daraus ist abzulesen, daß bei derselben Person das Ausscheidungsmaximum zeitlich unterschiedlich liegen kann (2–4 Std.). Weiter zeigte sich, was im Hinblick auf eine genetische Auswertung wichtig erscheint, daß zwei Versuchspersonen, die bei der ersten und einmal auch bei der zweiten Untersuchung als Nichtausscheider eingestuft

worden waren, bei der folgenden Untersuchung deutlich Betanin im Harn ausschieden, so daß also alle diese Fähigkeit besaßen. Der negative Befund kann durch eine nicht ausreichende Empfindlichkeit des Bestimmungsverfahrens bedingt gewesen sein.

Tägliche Aufnahme von Roten Rüben über 47–66 Tage

In einer weiteren Versuchsreihe wurde bei 3 gesunden erwachsenen Personen (I–K; 2 ♂, 1 ♀) die Ausscheidung von Betanin im Harn bei einer täglichen Rote Rüben-Mahlzeit über mindestens 47 Tage gemessen, um zu prüfen, ob bei der Ausscheidung des Betanins eine Fermentadaptation — an die schon LAUR dachte — eine Rolle spielen könnte. Hier erfolgte die Bestimmung der ausgeschiedenen Betaninmenge nur im Morgenharn. Der Zeitpunkt zwischen der Einnahme der Roten Rüben und dem Auffangen des Morgenharnes bewegte sich immer zwischen 8 und 10 Std. Auch am Abend vor Sonn- und Feiertagen wurden regelmäßig 125 g Rüben eingenommen, so daß die Zufuhr konstant blieb, allerdings wurde im Morgenharn keine quantitative Bestimmung durchgeführt. Um neben den Unterschieden in der Betaninausscheidung einzelner Personen auch die davon unabhängigen Schwankungen in der Konzentration zu demonstrieren, wurden auch die jeweiligen Harnmengen mit aufgeführt (Tab. 4). Wie aus der Tabelle hervorgeht, besteht keinerlei Gesetzmäßigkeit in der Betaninausscheidung hinsichtlich Menge oder Konzentration, noch ist wenigstens in dem von uns verfolgten Abschnitt eine adaptive Fermentreaktion zu beobachten. Bei Versuchsperson K. war am 38. und 39. Tag des laufenden Versuches kein Betanin nachzuweisen. Dies hätte als eine adaptive Fermentreaktion gedeutet werden können. Weitere Aufnahme von Roten Rüben brachte aber in den nächsten Tagen eine starke Betaninausscheidung, wobei sogar Betaninmengen erreicht wurden, die höher lagen als zuvor.

Betaninausscheidung bei Erhöhung der Rübenmenge

Am letzten Versuchstag nahm jede der 3 Personen die dreifache Menge Roter Rüben, also 375 g, zu sich, um zu prüfen, ob die Betaninausscheidung mit der aufgenommenen Rübenmenge parallel geht. Bei Aufnahme der dreifachen Rote Rüben-Menge am letzten Versuchstag war nur ein sehr geringfügiger oder gar kein Anstieg der ausgeschiedenen Betaninmenge zu verzeichnen (vgl. Tab. 4).

Tab. 4
Betanin im Harn nach täglicher Aufnahme von 125 g Roter Rüben über 47–66 Tage, am letzten Tage nach Aufnahme der dreifachen Rübenmenge

Versuchsperson	Versuchsdauer Tage	Versuchstag	Morgenharn ml	Betanin im Morgenharn µg	Betanin im Morgenharn µg/100 ml
I ♂	47	1.	350	745	216
		2.–45.	150–580	360–1080	100–570
		46.	320	960	300
		47.	150	225	150
J ♀	66	1.	490	588	118
		2.–64.	165–460	225–1425	75–500
		65.	250	750	300
		66.	230	978	425
K ♂	61	1.	420	1050	250
		2.–59.	290–830	0–2175	0–328
		60.	600	3480	580
		61.	520	2210	425

Betanin im Serum

Über den Betaninspiegel im Blut nach Aufnahme von Roten Rüben liegen nur wenige Beobachtungen vor.

Hess und Myers (11) erwähnen eine Rotfärbung von Urin und Plasma nach Aufnahme von Roten Rüben bei manchen Kindern. Auch Ruh und Garvin (12) stellten in 3 Fällen von Betaninurie 4 Stdn. nach der Rübenaufnahme im Serum eine Rotfärbung fest. Jakobsen (16) dagegen konnte bei einer 33-jährigen Frau, die 2 bis mindestens 18 Stdn. nach dem Essen von Roten Rüben einen stark rot gefärbten Urin ausschied, 4 Stdn. nach der Mahlzeit keine rote Tönung des Serums feststellen. Zindler und Colovos (23) prüften bei 9 ihrer „Nichtausscheider“ vor sowie 2, 4 und 8 Stdn. nach der Rote Rüben-Mahlzeit entnommene Plasmaproben und fanden alle frei von einer roten Verfärbung. In diesem Zusammenhang interessant sind die Versuche von Laur (22) der bei in vitro-Versuchen fand, daß frisches Blutserum sowie das Sediment der roten und weißen Blutkörperchen allein keine Veränderung von zugesetztem Betanin bewirkten.

Die widersprechenden Angaben über das Vorkommen von Betanin im Serum gaben den Anlaß zu eigenen Untersuchungen (27), wobei jeweils zum Nachweis einer Resorption auch der Betanin-Gehalt des Harnes bestimmt wurde. Da die säulenchromatographische Anreicherung und Abtrennung des Betanin im Serum nicht möglich war, verwendeten wir die spektrophotometrische Bestimmung¹⁾, wobei Betanin aufgrund seiner Absorption mit einem Maximum bei 538 nm nachgewiesen werden kann.

In Zusatzversuchen war Betanin nach Enteiweißung von Serum durch Zusatz der gleichen Menge 20proz. Trichloressigsäure und Zentrifugieren deutlich an seinem rötlichen Farbton zu erkennen und noch bis zu einer Konzentration von 7 µg/ml spektrophotometrisch zu erfassen. Empfindlicher war es, das Serum direkt ohne die zur Enteiweißung notwendige Verdünnung spektrophotometrisch zu untersuchen. So konnten in Zusatzversuchen noch 3 µg Betanin/ml in nicht hämolytischen Seren nachgewiesen werden. Bei diesem Vorgehen kann schon ein sehr geringer Hämoglobin-Gehalt des Serums, der mit bloßem Auge nicht mehr erkennbar ist, starke Störungen verursachen, da das Absorptionsmaximum der β -Bande des Oxyhämoglobin bei 541 nm praktisch mit demjenigen des Betanin zusammenfällt. Zur Eliminierung dieses Störfaktors wurde die sogenannte „Differentialanalyse“ angewandt. Dazu wird zunächst die Absorptionskurve einer Serumprobe im sichtbaren Bereich gegen Wasser als Vergleichswert aufgenommen. Treten hierbei keine Absorptionsmaxima bei 541 und 576 nm (Hämoglobin) auf, so dient diese Serumprobe in der folgenden Messung als Vergleichswert. Gegen diesen wird die Absorption der auf Betanin zu prüfenden Serumprobe gemessen. Zeigen sich Maxima bei 541 und 576 nm, so wird in die Vergleichsküvette vorsichtig tropfenweise soviel einer verdünnten Hämoglobininlösung gegeben, bis das Maximum bei 576 nm eben verschwindet. Eine Absorption bei 538 nm kann jetzt auf Betanin bezogen werden. Die Nachweisgrenze liegt hier bei 3 µg Betanin/ml Serum.

¹⁾ Selbstregistrierendes Spektralphotometer Modell „DK 2“ der Fa. Beckman Instruments, München.

Als störend erwies sich eine Lipämie. Deshalb nahmen die Versuchspersonen einen Tag vor dem geplanten Versuch keine fetten Speisen zu sich. Am nächsten Morgen wurden nach der Entnahme einer Blutprobe innerhalb von 10–15 Min. 250 g gekochte Rote Rüben aufgenommen. Vom Ende der Mahlzeit an wurden über 4 Stdn. stündlich 10 ml Blut entnommen. Etwa zur gleichen Zeit wurde Spontanharn gesammelt und mit der zuvor beschriebenen säulenchromatographischen Methode die Betaninkonzentration im Urin bestimmt. Hierbei wurden die in Tabelle 2 wiedergegebenen Werte erhalten. Trotz der deutlichen Betaninausscheidung im Urin war bei keiner der Versuchspersonen Betanin im Serum festzustellen. Daraus ergibt sich, daß der Betaninblutspiegel unter 300 µg% liegen muß. Die Prüfung auf Betanin im enteiweißten Serum der Versuchspersonen brachte gleichfalls ein negatives Ergebnis.

Diskussion

Nach unseren Untersuchungen scheidet praktisch jede gesunde Person nach Gabe von Roten Rüben Betanin im Harn aus. Die ausgeschiedene Betaninmenge ist schon bei ein- und derselben Person selbst nach Aufnahme gleicher Rübenmengen sehr unterschiedlich. Die Zuführung einer größeren Rübenmenge führte nicht zu einer Erhöhung der Ausscheidung. Viele der Harnproben, die quantitativ bestimmbare Betaninmengen enthielten, waren visuell nicht von betaninfreien Harnen zu unterscheiden, da die Betaninkonzentration zu niedrig lag, um eine sichtbare Rotfärbung zu bewirken. Die Ausscheidung von Betanin in geringer Konzentration ist aber nicht gleichbedeutend mit der Ausscheidung einer geringen Betaninmenge, da neben der Konzentration auch das Harnvolumen eine Rolle spielt. Daß bei unseren Versuchen in wenigen Einzelfällen kein Betanin nachweisbar war, kann durch die Nachweisgrenze unseres Bestimmungsverfahrens bedingt sein. Es ist deshalb hier eine Betaninausscheidung nicht auszuschließen. Die quantitative Verfolgung der Ausscheidung zeigte, daß sicher nur ein sehr kleiner Teil des aufgenommenen Betanins im Harn erscheint, während der größte Anteil wohl mit den Faeces abgegeben wird.

Direkt in den großen Kreislauf gebrachtes Betanin erscheint nach kurzer Zeit praktisch quantitativ im Harn, wie Laur beim Menschen sowie Watson bei Ratten und Menschen durch i. v.-Gabe von Betaninlösung gezeigt haben. Unsere Ergebnisse lassen sich am einfachsten mit der Annahme deuten, daß Ausmaß und Geschwindigkeit der Resorption im Darm für das Ausmaß der Ausscheidung von Betanin im Harn verantwortlich sind, wie dies grundsätzlich schon Laur angenommen hat. Ob Zusammenhänge mit der Eisenresorption bestehen, was Watson, Luke und Inall für möglich halten, läßt sich damit noch nicht entscheiden. Die Annahme eines „Nichtausscheiders“ in anderen Arbeiten erklärt sich durch die angewandte Methodik der visuellen Einstufung einer Harnprobe, wobei von einem nicht rot gefärbten Harn auf eine fehlende Betaninausscheidung geschlossen wurde. Wieweit unter Berücksichtigung der von uns er-

arbeiteten quantitativen Verhältnisse eine verstärkte oder verminderte Betaninausscheidung durch allergische Erscheinungen verursacht sein kann, läßt sich noch nicht sagen. Genetische Faktoren scheinen keine Rolle zu spielen. Ebenso wenig ist für die Betaninausscheidung ein stark saurer Urin Voraussetzung; dagegen kann in einem stärker alkalischen Urin Betanin zerstört werden. Eine Fermentadaptation als Ursache für einen schnellen Abbau resorbierten Betanins, wodurch das Erscheinungs-

bild des „Nichtausscheiders“ entstehen könnte, scheint, wie aus unseren Langzeitversuchen hervorgeht, keine Rolle zu spielen. Im Serum konnten wir nach Rote Rüben-Aufnahme und Sicherung der Resorption von Betanin durch Nachweis von Betanin im Harn Betanin nicht nachweisen, damit lag die Konzentration sicher unter 300 $\mu\text{g}\%$. Frühere Arbeitsergebnisse erscheinen unsicher, da ein Hämoglobingehalt des Serums Betanin vortäuschen kann.

Literatur

1. WILCOX, M. E., H. WYLER und A. S. DREIDING, Zur Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin. 8. Mitteilung: Stereochemie von Betanidin und Isobetanidin. *Helv. Chim. Acta* 48, 1134 (1965). — 2. SCHUDEL, G., Über die Anthocyane von *Beta vulgaris* L. (var. *rapacea* Koch forma *rubra* L.) und *Raphanus sativus* L. (var. *Radicula* Pers.). Dissertation Zürich (1918). — 3. AINLEY, A. D. und R. ROBINSON, Nitrogenous anthocyanins. Part III. Preliminary experiments with betanidin. *J. Chem. Soc. (London)* 1937, 446. — 4. PUCHER, G. W., L. C. CURTIS und H. B. VICKERY, The red pigment of the root of the beet (*Beta vulgaris*). I. The preparation of betanin. *J. Biol. Chem.* 123, 61 (1938). — 5. PUCHER, G. W., L. C. CURTIS und H. B. VICKERY, The red pigment of the root of the beet (*Beta vulgaris*). II. A method to determine betanin. *J. Biol. Chem.* 123, 71 (1938). — 6. REZNIK, H., Die Pigmente der Centrospermen als systematisches Element II. — Untersuchungen über das ionophoretische Verhalten. *Planta* 49, 406 (1957). — 7. WYLER, H., G. VINCENTI, M. MERCIER, G. SASSU und A. S. DREIDING, Zur Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin, 2. (vorläufige) Mitteilung. *Helv. Chim. Acta* 42, 1696 (1959). — 8. SCHMIDT, O. TH., P. BECHER und M. HÜBNER, Zur Kenntnis der Farbstoffe der Rote Rübe, III. *Chem. Bericht* 93, 1296 (1960). — 9. GELDMACHER-v. MALLINCKRODT, M. und K. MENDNER, Die Betaninurie: Nachweis und gerichtsmedizinische Bedeutung. *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* 56, 287 (1965). — 10. AIELLO, M.-TH., Zur Genetik der Betaninurie. Dissertation Erlangen (1965). — 11. HESS, A. F. und V. C. MYERS, Carotinemia: A new clinical picture. *J. Amer. Med. Assoc.* 73, 1743 (1919). — 12. RUH, H. O. und J. A. GARVIN, Anthocyaninemia and anthocyaninuria. *Ohio State Med. J.* 20, 763 (1924). — 13. CATHALA, J., P. MARTROU und L. GRAS, Sur le passage du pigment de la betterave rouge dans les urines. *Bull. Soc. Pédiat. de Paris* 37, 88 (1939). — 14. MATHESON, A., Anthocyaninuria. *Am. J. Dis. Child.* 51, 226 (1936). — 15. HALLÉ, J. und L. GIRARD, Passage du pigment de la betterave rouge dans l'urine de l'enfant. *Bull. Soc. Pédiat. de Paris* 36, 266 (1938). — 16. JACOBSEN, E., Rød urin efter spisning af rødbeder. *Ugeskrift Laeg. (Dän.)* 104, 136 (1942). — 17. Allison, A. C. und K. G. McWHIRTER, Two unifactorial characters for which man is polymorphic. *Nature* 178, 748 (1956). — 18. SALDANHA, P. H., L. E. MAGALHAES und W. A. HORTA, Race differences in the ability to excrete beetroot pigment (Betanin). *Nature (Lond.)* 187, 806 (1960). — 19. SALDANHA, P. H., O. FROTA-PESSOA und L. I. S. PEIXOTO, Genetik der Betanin-Ausscheidung bei holländischen Einwanderern in Brasilien. In: Second International Conference of Human Genetics, Roma, D. 221 (1961). — 20. JERVIS, J. J., Acidosis and hepatic disorder. *Brit. Med. J.* 1, 1408 (1914). — 21. POOLE, M. W., Anthocyaninuria. *Amer. J. Dis. Child.* 33, 784 (1927). — 22. LAUR, A., Erythrurie nach Rotrübengeuß. Klinisch-experimenteller Beitrag zum Problem der Darmresorption. *Dtsch. Arch. Klin. Med.* 196, 466 (1949). — 23. ZINDLER, G. A. und G. C. COLOVOS, Anthocyaninuria and beet allergy. *Ann. Allergy* 8, 603 (1950). — 24. LUKE, R. G. und W. C. WATSON, Anaphylaxis with beeturia. *Brit. Med. J.* 1963, 980. — 25. WATSON, W. C., R. G. LUKE und J. A. INALL, Beeturia, Its incidence and a clue to its mechanism. *Brit. Med. J.* 1963, 971. — 26. MENDNER, K., Die Betaninurie, Nachweis und gerichtsmedizinische Bedeutung. Dissertation Erlangen (1965). — 27. AIELLO, M. V., Untersuchungen zum qualitativen Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von freiem Betanin im Serum. Dissertation Erlangen (1964).

Priv.-Doz. Dr. Dr. M. Geldmacher-v. Mallinckrodt
852 Erlangen, Universitätsstr. 22

Ein optischer Test zur Bestimmung der Kreatin-Phosphokinase

Von M. FERAUDI und K. HARM

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Hamburg-Eppendorf (Direktor: Prof. Dr. J. Kühnau)

(Eingegangen am 4. Februar 1967)

Es wird die Zusammensetzung eines optischen Tests zur Bestimmung der CPK (2. 7. 3. 2 ATP: Kreatin-Phosphotransferase) nach dem Reaktionsschema von M. L. TANZER und CH. GILVARG angegeben. Durch die Ermittlung optimaler Reaktionsbedingungen hat der Test eine wesentlich höhere Empfindlichkeit als die bisher bekannten Verfahren. Die gemessene Aktivität ist der Enzymkonzentration in der Küvette proportional, und zwar bei Einsatz von kristalliner CPK im Bereich von 0,06 bis 0,004 $\mu\text{Mol}/(\text{Min.} \cdot \text{ml})$ und bei Einsatz von menschlichem Serum im Bereich von 0,005 bis 0,0001 $\mu\text{Mol}/(\text{Min.} \cdot \text{ml})$.

A procedure is described for the coupled photometric measurement of CPK (2. 7. 3. 2 ATP: creatine phosphotransferase) according to the reaction mechanism of M. L. TANZER and CH. GILVARG. By establishing optimal reaction conditions the sensitivity of the method was markedly increased. The activity level measured is proportional to the concentration of enzyme in the cuvettes for crystallized CPK in the range 0,06—0,004 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{ml})$ and for human serum in the range 0,005—0,0001 $\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{ml})$.

Es gibt verschiedene Verfahren (1, 2, 3, 4, 5), um die Aktivität der CPK (2.7.3.2-ATP: Kreatin-Phospho-

transferase) im optischen Test zu messen. Jedoch fehlen Angaben darüber, wie die Zusammensetzung der ein-