

Vitamin K1

Vitamin K1 (Phyllochinon) wird von grünen Pflanzen synthetisiert und mit der Nahrung aufgenommen. Vitamin K3 (Menachinon) wird von Bakterien, wie sie auch im menschlichen Darm vorkommen, gebildet.

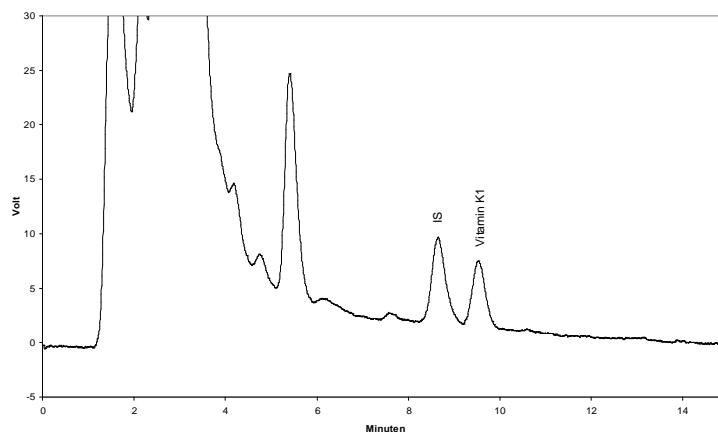
Vitamin K wirkt als Cofaktor einer sauerstoffabhängigen Carboxylase, welche spezifisch Glutaminsäurereste in γ -Position carboxyliert. Aufgrund dieser Modifikation können bestimmte Gerinnungsfaktoren aktiviert werden. Osteocalcin erlangt durch die Carboxylierung die Fähigkeit an Hydroxylapatit der Knochenmatrix zu binden.

Vitamin K ist nur in geringem Maße speicherfähig. Mangelerscheinungen zeigen sich bereits nach wenigen Tagen. Ein Mangel äußert sich vor allem in Gerinnungsstörungen. Als Symptome treten Blutungen in Haut und Schleimhäuten, in der Muskulatur und im Urogenitaltrakt auf. Desweiteren sind Störungen im Knochenstoffwechsel aufgrund mangelhafter Modifizierung von Osteocalcin beschrieben.

Prinzip der Methode

Zur Messung von Vitamin K1 bietet die Firma ImmuChrom GmbH einen kompletten Testkit an. Die Verwendung von fertigen Testkits erlaubt es auch Anwendern mit weniger HPLC-Erfahrung diese anspruchsvollen Bestimmungen durchzuführen. Zur Messung von Vitamin K1 ist eine aufwendige Probenvorbereitung nötig. Hierbei wird zunächst ein interner Standard zugegeben, um eventuelle Schwankungen in der Wiederfindung ausgleichen zu können. Anschließend folgt eine Festphasenextraktion. In einem Fällungsschritt werden höhermolekulare Substanzen abgetrennt. Nachdem die Probe zentrifugiert wurde, wird der Überstand abgenommen und mit organischem Lösungsmittel extrahiert. Die Probe wird eingedampft, resuspendiert, zentrifugiert und in die HPLC injiziert. Ein Nachsäulenreduktionsreaktor reduziert das Vitamin K und ermöglicht so den Nachweis im Fluoreszenzdetektor.

In einem technologisch aufwendigen Verfahren (Hochdruckflüssigkeitschromatographie) werden die Probenbestandteile auf einer speziellen Trennsäule aufgetrennt. Die Aufnahme der Chromatogramme wird mit einem Fluoreszenzdetektor durchgeführt. Dabei wird die Eigenschaft des reduzierten Vitamin K1 genutzt, eingestrahltes Licht einer definierten Wellenlänge in einer anderen Wellenlänge wieder abzustrahlen. Die Quantifizierung erfolgt über den mitgelieferten Plasma-Kalibrator und die Berechnung der Ergebnisse wird über die "externe Standard-Methode" anhand der Peakflächen durchgeführt.



ImmuChrom GmbH
Tiergartenstr. 7
64646 Heppenheim
Tel.: ++49 6252 910084
Fax: ++49 6252 910070
info@immuchrom.de
www.immuchrom.de