

UNIVERSITÄT HOHENHEIM

Institut für Biologische Chemie und Ernährungswissenschaft

**Entwicklung einer Methode zur Bestimmung von  
Vitamin A in Muttermilch mittels HPLC**

Diplomarbeit

vorgelegt von

Manuela Strobel

1998

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Um schneller und einfacher marginale Vitamin A Mangelzustände erfassen zu können, wurde eine Methode zur Bestimmung von Vitamin A in Muttermilch entwickelt. Auf Grund der, im Vergleich zum Serum, weniger ausgeprägten homöostatischen Regulierung von Vitamin A in der Muttermilch können dadurch schneller Vitamin A Defizite festgestellt und ggf. therapiert werden. Vor allem in Entwicklungsländern spielt diese Methode eine wichtige Rolle, da sie im Gegensatz zur Serumanalytik nicht-invasiv ist.

Aufgrund der lipophilen Eigenschaften des Vitamin A ist dieses ausschließlich im Fettkügelchen lokalisiert und bedarf extremer Bedingungen zur Isolierung. In der vorliegenden Arbeit wurde festgestellt, daß durch Zugabe von 500 µl 12,5 molarer KOH und einer Temperatur von 80°C die sehr stabile Struktur dieser Fettkügelchen zuverlässig aufgebrochen werden kann. Die Extraktionsbedingungen konnten durch Verwendung von Hexan/Toluol (1/1) als Lösungsmittel optimiert werden.

Zur Auftrennung des extrahierten Retinol fand eine CN-Säule (250\*4.6 Grom-Sil-CN-2 PR 3 µm) und Hexan (mit 3% Isopropanol) als Eluent Verwendung. Die darauffolgende Quantifizierung erfolgte mit Hilfe eines Fluoreszenz-Detektors.

Die nach Kalibrierung mit Standardkonzentrationen ermittelten Kalibrierkenndaten wurden auf Zuverlässigkeit und Präzision hin getestet. Die Einsatzmöglichkeit dieser Methode im Routineanalytikbereich ist dadurch gewährleistet

Zur Überprüfung der Qualität wurde eine kleine Vorstudie mit 40 Muttermilchproben durchgeführt. Um eventuell auftretende Schwankungen im Fettgehalt, aufgrund der Verwendung einer „mid-feed-collection“, ausgleichen zu können, fand eine Korrektur auf den, mit Hilfe der Creamatocrit-Technik ermittelten, Fettwert statt. Anhand dieser Studie kann eine Abnahme der Vitamin A Konzentration in Muttermilch mit fortschreitender Stillphase beschrieben werden. Infolgedessen, ist bei Studien, in denen der Vitamin A Status über die Vitamin A Konzentration in der Muttermilch ermittelt werden soll, eine sorgfältige Auswahl der Probandinnen in Abhängigkeit der Stillphase notwendig.