

Vitamin-D-Sterole in Frauenmilch, Kuhmilch und Säuglingsnahrung

C. Kunz* und W. Burmeister**

* Institut für Physiologische Chemie der Universität Bonn

** Universitätskinderklinik und Poliklinik Bonn

Zusammenfassung

Nach einer Übersicht der Untersuchungen von Frauenmilch und Kuhmilch, die mit biologischen und physikalisch-chemischen Methoden durchgeführt worden sind und die nur das native Vitamin D erfassen, werden die Ergebnisse, die mit neueren Nachweisverfahren gewonnen wurden, ausführlich diskutiert. Die Anwendung von Proteinbindungssassays ermöglicht auch eine Bestimmung von hydroxylierten Vitamin-D-Metaboliten.

Ein Vergleich der Konzentrationen von Frauenmilch und Säuglingsformulae auf Kuhmilchbasis deutet darauf hin, daß die günstigere antirachitische Aktivität von Frauenmilch vor allem auf den höheren Gehalt an 25-Hydroxy-Vitamin D zurückzuführen ist.

Summary

A review is given of the results of vitamin D determinations in human and cow's milk using physico-chemical methods. Thereby only parent vitamin D is determined. Further, the results obtained with protein-binding assays are discussed in detail. With the aid of these newer methods the concentrations of hydroxylated vitamin D derivatives can also be measured.

A comparison of the concentration of these vitamin D metabolites in human milk and infant formulas based upon cow's milk suggests that the higher anti-rachitic activity of human milk is connected with its higher concentration of 25-hydroxyvitamin D.

Schlüsselwörter: Vitamin D, Vitamin-D-Metaboliten, Frauenmilch, Kuhmilch, Säuglingsnahrung

Einleitung

Untersuchungen von humaner und boviner Milch auf ihre antirachitische Aktivität erfolgten schon vor der Entdeckung und Isolierung von Vitamin D (14, 33, 36). Anlaß dieser Forschungsarbeiten war die Erfahrung, daß Frauenmilch¹) hinsichtlich Vorbeugung und Heilung der Rachitis der Kuhmilch überlegen ist (15).

Abkürzungen

¹) Frauenmilch, FM; Kuhmilch, KM; Säuglingsformulae, SF; 25 OH D, 25-Hydroxy-Vitamin D; 24,25(OH)₂D, 24,25-Dihydroxy-Vitamin D; 1,25(OH)₂D, 1,25-Dihydroxy-Vitamin D.

Trotz zahlreicher Arbeiten, die mit biologischen und physikalisch-chemischen Methoden durchgeführt wurden, konnte in den letzten 50 Jahren die rachitisverhindernde Wirkung der FM bis heute nicht gefunden werden (10, 11, 28, 31, 32, 38, 41).

Im Zusammenhang mit den großen Fortschritten auf dem Gebiet des Vitamin-D-Stoffwechsels seit 1967 mit fast unüberschaubaren Forschungsaktivitäten (4, 35) ist die Frage des Vitamin D-Gehalts in der Milch erneut aufgegriffen worden. Die Erkenntnis, daß mit der Nahrung aufgenommenes oder in der Haut gebildetes Vitamin D₃ in Leber und Niere zu 25 OH D₃ und 1,25(OH)₂D₃ bzw. 24,25(OH)₂D₃ umgewandelt werden muß, um seine biologischen Wirkungen entfalten zu können (3, 16, 17, 30), führte zu intensiven Bemühungen, geeignete Bestimmungsverfahren für diese Metaboliten zu entwickeln. In der Zwischenzeit liegen verschiedene Methoden vor, mit denen Vitamin D²) und Metaboliten durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie und Proteinbindungsassays im Serum gemessen werden können (2, 9, 20, 22, 29). Die Anwendung dieser spezifischen Nachweisverfahren auf andere biologische Flüssigkeiten wie die Milch, hat bisher jedoch wenig Beachtung gefunden. Die meisten der vorliegenden Ergebnisse aus Untersuchungen von Milchen wurden mit biologischen oder physikalisch-chemischen Methoden erhalten. Eine Bestimmung von Vitamin-D-Metaboliten in der Milch war wegen ihrer niedrigen Konzentrationen nicht möglich.

Im folgenden werden kurz die Ergebnisse mit biologischen und physikalisch-chemischen Methoden beschrieben; Untersuchungen mit neueren Nachweisverfahren werden ausführlich diskutiert.

Biologische Methoden

Man unterscheidet zwischen kurativen, prophylaktischen und solchen Verfahren, die auf der Calciumabsorption beruhen. In Tabelle 1 sind einige der Methoden zusammen mit der minimal meßbaren Konzentration aufgeführt.

Als grundlegendes Prinzip gilt der Vergleich der Wirksamkeit von untersuchtem Material und Standardpräparat *in vivo*. Die Genauigkeit des Vergleichs hängt von der Definition und der Erfassbarkeit des vitaminspezifischen Effektes am Erfolgsorgan ab. Die Zuverlässigkeit der biologischen Methoden wird von einer Reihe von Faktoren bestimmt, die nur unvollkommen kontrollierbar sind. Dazu zählen die innerhalb kurzer Zeit variierende Reaktionsfähigkeit der Tiere und die Schwierigkeit, den Grad der Knochenkalzifizierung bei den Versuchstieren richtig auszuwerten. Weitere Nachteile dieser Verfahren sind die hohen Kosten und die lange Versuchsdauer.

Physikalisch-chemische Methoden

Physikalisch-chemische Verfahren setzen in der Regel hohe Vitamin-D-Konzentrationen voraus, wie sie meist nur in Konzentraten und angereicherten oder bestrahlten Produkten vorliegen. Diese Methoden sind in vielen Fällen nicht allgemein anwendbar und müssen je nach Probenmaterial modifiziert werden (Tab. 1).

In den letzten Jahren wird immer häufiger die Technik der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) zur Bestimmung von Vitamin-D-Sterolen eingesetzt.

²⁾ Vitamin D ohne Zahlenindex umfaßt Vitamin D₂ und Vitamin D₃.

Tab. 1. Biologische und physikalisch-chemische Methoden (modifiziert nach Norman 1979).

	Minimal meßbare Konzentration in ng
Line-Test bei Ratten	12
AOAC ¹⁾ Hühner test	50
Intestinale Calciumabsorption	
in vivo	
⁴⁵ Ca ²⁺	125
⁴⁷ Ca ²⁺	125
in vitro	
everted sacs	250
UV-Absorption	1000
Kolorimetrische Methoden	
Antimontrichlorid	1250
Acetylchlorid	1000
UV-Fluoreszenz	1000
Hochdruckflüssigkeitschromatographie	5

¹⁾ Association of Official Analytical Chemists

Der Vorteil dieser Methode liegt in der Auf trennung von Vitamin D und seinen Metaboliten und in der Abtrennung von lipophilem Material.

Ausführliche Beschreibungen der am häufigsten verwendeten biologischen und physikalisch-chemischen Methoden und deren Anwendung finden sich bei György (1951), Gstirner (1965) und Norman (1979) (8, 7, 34).

Kompetitive Proteinbindungsassays

Die Ursache, weshalb FM günstigere antirachitische Wirkungen hat als KM, konnte mit biologischen und physikalisch-chemischen Verfahren bisher nicht gefunden werden. Ein Grund dafür dürfte sein, daß diese Nachweisverfahren relativ unspezifisch und störanfällig sind. Außerdem können hydroxylierte Metaboliten, deren Nachweis erst in den letzten 15 Jahren gelungen ist, nicht bestimmt werden.

Die Entwicklung von spezifischen Bestimmungsmethoden wie Proteinbindungsassays (PBAs), die neben dem nativen Vitamin D auch dessen Metaboliten erfassen, wurde erst möglich durch die Isolierung von Proteinen im Serum und Gewebe verschiedener Tierarten und auch beim Menschen mit hoher Affinität und Spezifität für Vitamin D und seine Metaboliten. Weitere Voraussetzungen waren die Verfügbarkeit von radioaktiv markierten Substanzen mit genügend hoher spezifischer Aktivität, der Einsatz chromatographischer Trennungsschritte zur Reinigung von Lipidextrakten und die Anwendung der Adsorptions technik (HPLC) zur Trennung der spezifisch gebundenen Sterole.

Ergebnisse mit biologischen und physikalisch-chemischen Methoden

Untersuchungen von FM und KM auf den Vitamin-D-Gehalt bzw. die Vitamin-D-Aktivität mit biologischen oder physikalisch-chemischen Verfahren führten zu stark schwankenden Ergebnissen.

Die Angaben für KM liegen etwa zwischen 5 und 40 IE/l, wobei diese Werte von den Autoren als durchschnittliche Konzentrationen mitgeteilt werden. Paul und Southgate (1978) geben für frische Sommermilch 0,03 µg/100 ml Vitamin D₃ (12 IE/l) und für Wintermilch 0,013 µg/100 ml Vitamin D₃ (5,2 IE/l) an (37).

Nach Souci, Fachmann und Kraut (1981) schwankt der Vitamin-D-Gehalt in KM zwischen 8 und 36 IE/l (42).

Ein Vergleich dieser Daten mit den Werten für FM zeigt, daß die Konzentrationen in derselben Größenordnung liegen. Harris und Bunker (1939) ermittelten 4,2 IE/l (10), Polskin et al. (1945) und Escudero et al. (1947) 10 IE/l (5, 38). Hartmann und Dryden (1965) geben 22 IE/l, zusammengestellt aus 8 Referenzen, an (11). Diese Ergebnisse finden sich auch in Nachschlagewerken. Nach Paul und Southgate (1978) beträgt der Vitamin-D-Gehalt der FM 10 IE/l, nach Souci, Fachmann und Kraut (1981) kann der Gehalt zwischen 4 und 48 IE/l schwanken (37, 42).

Ergebnisse mit Proteinbindungsassays

Die ersten Arbeiten stammen von Hollis et al. (1981a) (18), die einige FM-Proben auf ihren Gehalt an Vitamin D und verschiedenen Metaboliten untersuchten (Tab. 2). Angeblich hatten die Frauen einen normalen Vitamin-D-Status, der jedoch nicht näher beschrieben wurde. Eine zusätzliche Vitamin-D-Aufnahme während der Schwangerschaft erfolgte nicht.

Alle gemessenen Vitamin-D-Sterole sind im Serum vorhanden, wenn auch dort in wesentlich höherer Konzentration.

Da wenige Jahre zuvor verschiedene Gruppen über größere Mengen an Vitamin D in der wäßrigen Phase berichteten (28, 31, 41), untersuchten Hollis et al. (1981a) in denselben FM-Proben auch die Molkefraktion. Unter der Bedingung, daß sofort nach dem Abpumpen der Milch eine Fraktionierung in eine Fett- und eine Molkefraktion durchgeführt wurde, konnten sie dieselben Konzentrationen von Vitamin D und Metaboliten in der Molke identifizieren wie in der gesamten Milch (Tab. 2). Bei längerem Stehenlassen der Milch erfolgte eine Verlagerung der Vitamin-D-Sterole von der Molke in die fettlösliche Phase. Nach Ansicht der Autoren ist das Milchfett aus noch nicht geklärten Gründen in der Lage, die zunächst am wasserlöslichen Vitamin-D-bindenden Protein (DBP) des Serums gebundenen Vitamin-D-Sterole an sich zu ziehen. Somit müßte man die Vit-

Tab. 2. Vitamin D und Metaboliten in FM (nach Hollis et al. 1981 a).

	Gesamte Milch pg/ml	Molke pg/ml
Vitamin D	39 ± 9 ¹⁾	41 ± 10
25OHD	311 ± 31	310 ± 34
24,25(OH) ₂ D	52 ± 8	52 ± 7
25,26(OH) ₂ D	32 ± 9	29 ± 10
1,25(OH) ₂ D	5,1 ± 0,3	5,4 ± 0,5

¹⁾ x ± SD, n = 5

Tab. 3. Vitamin-D-Metaboliten in FM (nach Weisman et al. 1982).

	$\bar{x} \pm \text{SEM}$ pg/ml	(n)
25OHD	370 ± 30	36
24,25(OH) ₂ D	24,8 ± 1,9	36
1,25(OH) ₂ D	2,2 ± 0,1	18

amin-D-Aktivität der Milch nicht in Beziehung zum Fettgehalt, sondern zu der aus dem Plasma stammenden DBP-Konzentration sehen.

Diese Ergebnisse könnten die unterschiedlichen Auffassungen in der Literatur bezüglich der Lokalisation von Vitamin D und Metaboliten erklären, sofern sie sich in weiteren Untersuchungen bestätigen.

Die Konzentrationen an sulfatiertem Vitamin D in der Milch ist nach neueren Untersuchungen sehr gering (19), jedoch läßt sich dessen Funktion noch nicht eindeutig beurteilen (25).

Weisman et al. (1982) untersuchten mehrere Milchen auf ihren Gehalt an 25OHD, 24,25(OH)₂D und 1,25(OH)₂D (43). Die Proben wurden von Frauen, die keine Vitamin-D-Supplementierung erhielten, zwischen dem 3. und 21. Tag nach der Geburt gesammelt. Die ermittelten Konzentrationen (Tab. 3) liegen in der Größenordnung wie die Werte von Hollis et al. (1981a). Die Angaben für 24,25(OH)₂D müssen allerdings in Frage gestellt werden, da die Autoren für die 36 bestimmten Proben eine Streuung von < 16 bis 50 pg/ml angeben. Daraus muß man schließen, daß zur Berechnung eines Mittelwertes auch Daten von Proben herangezogen wurden, deren Konzentration unterhalb ihrer Nachweisgrenze (16 pg/ml) liegt.

Reeve et al. (1982a) haben neben der biologischen Aktivität auch die Konzentrationen verschiedener Vitamin-D-Sterole in 100 ml eines FM-Pools gemessen (39). Nach Angaben der Autoren stammte die Milch von 3 Frauen in der Mitte der Laktation mit einer täglichen Vitamin-D-Aufnahme von 400 bis 800 IE. Als Ergebnis werden 379 pg/ml Vitamin D und 163 pg/ml 25OH D₃ mitgeteilt (Tab. 4). Die Konzentrationen von 25OH D₂, 24,25(OH)₂D und 1,25(OH)₂D liegen unterhalb der Nachweisgrenze ihrer Proteinbindungsassays.

Diese Daten unterscheiden sich von denen der vorher genannten Arbeitsgruppen insbesondere in den Konzentrationen von 24,25(OH)₂D und 1,25(OH)₂D. Der Vitamin-D-Gehalt liegt um das 10fache höher als bei Hollis et al. (1981a).

Tab. 4. Vitamin-D-Metaboliten in einem FM-Pool (nach Reeve et al. 1982 a).

	pg/ml
Vitamin D ₃	338
Vitamin D ₂	41
25OHD ₃	163
25OHD ₂	< 20
24,25(OH) ₂ D	< 21
1,25(OH) ₂ D	< 0,6

Tab. 5. Vitamin D und Metaboliten in FM (nach Kunz et al. 1984).

	pg/ml		
	Vitamin D	25OHD	1,25(OH) ₂ D
Kolostralmilch	122 ± 3,4 ¹⁾ (7) ²⁾	294 ± 50,6 (10)	3,2 ± 0,6 (8)
transit. Milch	96 ± 13,0 (9)	331 ± 30 (10)	4,6 ± 1,0 (9)
reife Milch	38 ± 3,3 ³⁾ (9)	845 ± 190 ⁴⁾ (14)	5,3 ± 0,7 ⁵⁾ (20)

¹⁾ x ± SEM²⁾ () Anzahl der Proben³⁾ p < 0,001, signifikanter Unterschied zu Kolostralmilch⁴⁾ p < 0,01, signifikanter Unterschied zu Kolostralmilch⁵⁾ p < 0,025, signifikanter Unterschied zu Kolostralmilch
(Student T-Test)

Wir haben Konzentrationsänderungen von Vitamin D, 25OH D und 1,25(OH)₂D in FM im Verlaufe der Laktationszeit feststellen können (27). Der Vitamin-D-Gehalt der reifen Milch beträgt nur noch ein Drittel der Konzentrationen der frühen Milch; dagegen steigen die 25-OH-D-Werte im Laufe der Laktation um das Dreifache an (Tab. 5). Nicht so deutlich, aber auch signifikant ist die Zunahme des 1,25(OH)₂D.

Ein Vergleich unserer Ergebnisse mit den bisher vorliegenden Daten kann nur mit Einschränkung vorgenommen werden, da die Zahl der von anderen untersuchten Proben klein ist und eine Zuordnung zu verschiedenen Laktationsperioden nicht ermöglichte.

Der Vitamin-D-Gehalt der reifen FM unterscheidet sich nicht von den Werten der Arbeitsgruppe um Hollis (1981a). Auch die 1,25(OH)₂D-Konzentrationen bei Hollis et al. (1981a), Weisman et al. (1982) und unserer Studie sind relativ einheitlich, dagegen liegt der Wert von 1,25(OH)₂D bei Reeve et al. (1982a) unterhalb ihrer Nachweisgrenze von 0,6 g (vgl. Tab. 2 bis 5).

Die 25-OH-D-Konzentrationen von Hollis et al. (1981a) und Weisman et al. (1982) entsprechen unseren Werten in Kolostralmilch und transitorischer Milch weitgehend. Die Streuung der 25-OH-D-Werte (181 bis 2486 pg/ml) in der reifen Milch zeigt, daß große inter- und intra-individuelle Schwankungen vorkommen. Damit ist eine Variabilität festgestellt, die von anderen Milchinhaltstoffen, wie z. B. den Fetten, bereits bekannt ist (12, 44).

Betrachtet man das Verhältnis von Vitamin D und 25-Hydroxy-Vitamin D, so fällt auf, daß weder bei Hollis et al. (1981a) noch bei unseren Untersuchungen die Konzentrationen des nativen Vitamin D die Werte des hydroxylierten Metaboliten übersteigt (18, 27). Dies gilt sowohl für FM als auch für KM. Abweichend hiervon finden Reeve et al. (1982a und b) in beiden Milcharten jeweils Vitamin D in höchster Konzentration (39, 40). Somit unterscheiden sich die Ergebnisse dieser Arbeitsgruppe nicht nur im Gehalt an 1,25(OH)₂D, sondern auch in dem der genannten Vorstufen

von den Werten der Arbeitsgruppe um Hollis und unseren Werten. Es muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß die Aussagekraft von Werten, die aus einer einzigen Probe eines FM- bzw. KM-Pools gewonnen wurden, begrenzt ist. Eine mögliche Ursache für die abweichenden Ergebnisse könnte der unterschiedliche Versorgungsgrad der Frauen, die an der Studie teilnahmen, sein: Reeve et al. (1982a) geben an, daß der Milchpool von Frauen stammt, die 500 bis 1000 IE Vitamin D pro Tag einnahmen, während Hollis et al. (1981a) über einen guten Vitamin-D-Versorgungsgrad der Frauen ohne zusätzliche Aufnahme berichten. Die Frauen, die an unserer Studie teilnahmen, bekamen während Schwangerschaft und Laktation 400 IE Vitamin D₂ täglich.

Daß die orale Vitamin-D-Zufuhr eine Auswirkung auf die Milchkonzentration des nativen Vitamin D und, jedoch wesentlich weniger stark, des 25 OHD hat, konnte von der Arbeitsgruppe um Hollis gezeigt werden (6, 21).

Vergleich der Konzentrationen in Frauenmilch und Säuglingsnahrung

Die Untersuchung einiger Säuglingsformulae (SF) auf ihren Gehalt an Vitamin D, 25 OHD und 1,25(OH)₂D (27) ermöglicht auch einen Vergleich der Konzentrationen in Säuglingsnahrung und Frauenmilch.

Im Mittel konnten wir 86,6 % der den Formulae zugesetzten Vitamin-D₃-Menge wiederfinden. Eine mit der Lagerungsdauer abnehmende Vitamin-D-Konzentration wurde nicht beobachtet (26).

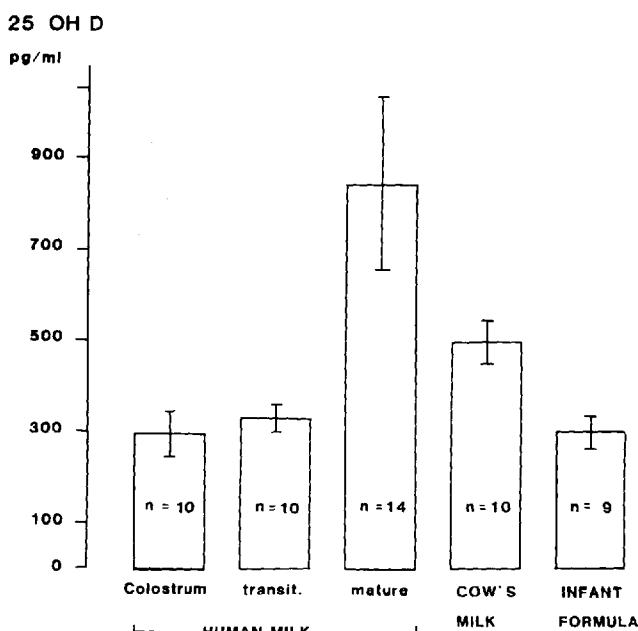


Abb. 1. Vergleich der 25-OH-D-Konzentrationen in FM, KM und SF ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = Anzahl der Proben).

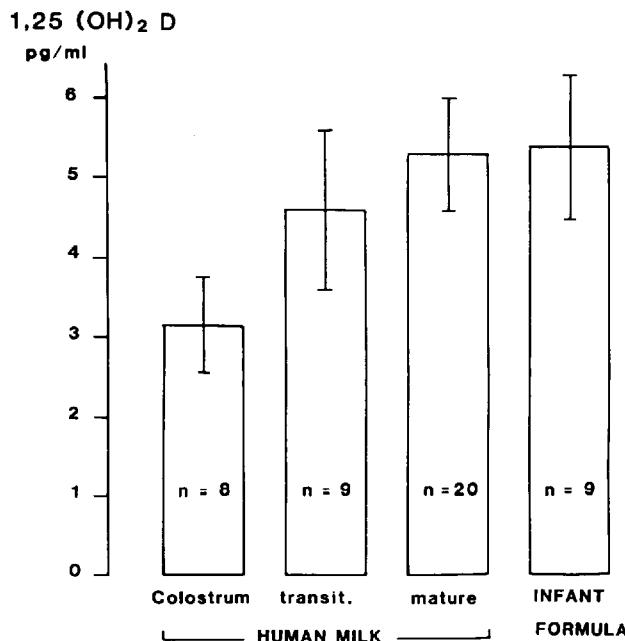


Abb. 2. Vergleich der 1,25(OH)₂D-Konzentrationen in FM und SF ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, n = Anzahl der Proben).

Die Bestimmung der hydroxylierten Metaboliten ergab im Vergleich zu reifer FM singifikant niedrigere 25-OH-D-Werte in den SF (FM: 845 ± 190 pg/ml; SF: 299 ± 35 pg/ml) bei etwa gleich hohem Gehalt an 1,25(OH)₂D (FM: $5,3 \pm 0,7$ pg/ml; SF: $5,4 \pm 0,9$ pg/ml) (Abb. 1 und 2).

Die bisher übliche Supplementierung von Säuglingsnahrung mit Vitamin D₂ oder Vitamin D₃ entspricht somit nicht den Verhältnissen in der von uns untersuchten FM, in der mit zunehmender Laktationszeit der Vitamin-D-Gehalt abnimmt und die 25-OH-D-Konzentration ansteigt. Sollten sich in weiteren Studien diese Ergebnisse bestätigen, so würde eine Nachahmung der FM-Zusammensetzung bei der Herstellung von Säuglingsnahrung für eine Anreicherung mit 25 OH D sprechen.

Schlußfolgerung

Mit Proteinbindungsassays gewonnene Ergebnisse ermöglichen nicht unmittelbar eine Aussage zur biologischen Aktivität der gemessenen Werte. Es werden daher Umrechnungsfaktoren verwendet, um die Konzentrationen auch in „Internationalen Einheiten“ anzugeben (18, 27, 39, 43). Dabei ist jedoch zu beachten, daß sich die hydroxylierten Vitamin-D-Metaboliten in ihrer Wirksamkeit deutlich von der des nativen Vitamin D unterscheiden, während die Angabe von „Internationalen Einheiten“ sich ausdrücklich auf Vitamin D₃ bezieht. Hinzu kommt, daß die Größe des eingesetzten Faktors von dem Erfolgsorgan abhängt, an dem die Wirkung

von hydroxylierten Metaboliten mit dem nativen Vitamin D verglichen wird. Die Anwendung allgemein gültiger Umrechnungsfaktoren bzw. die Angabe von Äquivalenten, wie bei anderen fettlöslichen Vitaminen bereits üblich, ist bei den Vitamin-D-Sterolen derzeit noch nicht möglich.

Um eindeutige Aussagen zur antirachitischen Wirksamkeit machen zu können, sind Untersuchungen erforderlich, die neben der Bestimmung der Konzentrationen von Vitamin D und Metaboliten gleichzeitig aus derselben Frauenmilch die biologische Aktivität erfassen.

Literatur

1. Bekemeier H, Pfennigsdorf G (1974) In: Ammon R, Discherl W (Hrsg) Fermente, Hormone, Vitamine. Band III, Thieme Verlag, Stuttgart, 222-327
2. Bishop JE, Norman AW, Coburn JW, Roberts PA, Henry HH (1980) Mineral Electrolyte Metab 3:181-189
3. Blunt JW, DeLuca HF, Schnoes HK (1968) Biochemistry 7:3317-3322
4. DeLuca HF (1981) Ann Rev Physiol 43:199-209
5. Escudero P, Delbue C, Herriaiz ML, Musmanno E (1947) Rev Asoc Argent Dietol 5:3 (aus Nutr Abstr Rev 17:3780)
6. Greer FR, Hollis BW, Napoli JL (1984) J Pediatr 105:61-64
7. Gstirner F (1965) Enke Verlag, Stuttgart, 5. Aufl, 673
8. György P (1951) Band II, Academic Press, New York, 97 pp
9. Haddad JG, Chyu KJ (1971) J Clin Endocrinol Metab 33:992-995
10. Harris RS, Bunker JWM (1939) Am J Publ Healt 29:744-747
11. Hartmann AM, Dryden LP (1965) Am Dairy Sci Assoc, Cham 63
12. Harzer G, Haug M, Dieterich I, Genter PR (1983) Am J Clin Nutr 37:612-621
13. Helms P (1978) Laegeforeningens forlag, Copenhagen
14. Hess AF, Weinstock M (1927) Am J Dis Child 35:845
15. Hochsinger C (1923) In: Pfaundler MV, Schloßmann A (Hrsg) Handbuch der Kinderheilkunde, Band I, 3. Aufl. FCW - Vogel Verlag, Leipzig 668
16. Holick MF, Schnoes HK (1971) Proc Nat Akad Sci USA 68:803-804
17. Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF, Gray RW (1972) Biochem II:4251-4255
18. Hollis BW, Roos BA, Draper HH, Lambert PW (1981a) J Nutr 111:1240-1248
19. Hollis BW, Ross BA, Draper HH, Lambert PW (1981b) J Nutr 111:384-390
20. Hollis BW, Roos BA, Lambert PW (1981c) Steroids 37:609-620
21. Hollis BW (1983) Anal Biochem 131:211-219
22. Horst RL, Littledike ET, Riley JL, Napoli JL. Anal Biochem 116:189-203
23. Jones G (1978) Clin Chem 24:287-298
24. Karg H (1953) Med vet Diss, München.
25. Kunz C, Burmeister W (1983) Monatsschr Kinderheilk 131:472-473
26. Kunz C (1984) Diss, Bonn
27. Kunz C, Niesen M, Lilienfeld-Toal H v, Burmeister W (1984) Internat J Vit Nutr Res 54:141-148
28. Lakdawala DR, Widdowson EM (1977) Lancet I:167-168
29. Lambert PW, Syverson BJ, Arnaud CD, Spelsberg TC (1977) J Steroid Biochem 8:929-937
30. Lawson DEM (1980) In: Norman AW (ed) Vitamin D. Molecular biology and clinical nutrition, S 101. Marcel Dekker
31. Le Boulch N, Marnay-Gulat C, Raoul Y (1974) Internat J Vit Nutr Res 44:167-179
32. Leerbeck E, Søndergaard H (1980) Brit J Nutr 44:7-12
33. Lesné E, Vagliani M (1924) Comt Rend Acad D Sc 179:539
34. Norman AW (1979) In: Darby WL (ed) Basic and applied science. A series of monographs. Academic Press, London

35. Norman AW, Roth J, Orci L (1982) Endocrin Rev 3:331–366
26. Palmer MS, Kennedy C (1925) Proc Soc Exper Biol Med 23:230
37. Paul AA, Southgate DAT (1978) McCance and Widdowson's The Composition of Foods, HM Stationery Office, London, 4th ed
38. Polskin LJ, Benjamin K, Sobel AE (1945) J Nutr 30:451–466
39. Reeve LE, Chesney RW, DeLuca HF (1982a) Am J Clin Nutr 36:122–126
40. Reeve LE, Chesney RW, DeLuca HF (1982b) J Nutr 112:667–672
41. Sahashi Y, Suzuki T, Higaki M, Asano T (1969) J Vitaminol 15:78–82
42. Souci SW, Fachmann W, Kraut H (1981) Nährwerttabellen 1981/1982. Stuttgart
43. Weisman Y, Bawnik JC, Eisenberg Z, Spirer Z (1982) J Pediatr 100:745–748
44. Whitehead RG (1983) Lancet I:167–169

Eingegangen 8. Januar 1985

Für die Verfasser:

Dr. C. Kunz, Institut für Physiologische Chemie der Universität Bonn, Nußallee 11, 5300 Bonn 1