

Originalarbeiten

Vergleich der biologischen Aktivität und Stabilität von Menadion und Menadiol bei Hühnerküken

J. Gropp und W. Mehringer

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und
Ernährungsphysiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München

Zusammenfassung: In einem biologischen Testverfahren an Cumatetralyl sensibilisierten Küken konnte in 3 Versuchen anhand des Parameters Thromboplastinzeit mit homologer Thrombokinasen gezeigt werden, daß Menadioldiacetat und Menadioldibutyrat Vitamin-K-wirksam sind. Die biologische Wirksamkeit von Menadion aus diesen Menadiolestern betrug ca. 70 % der Menadionaktivität aus gecoatetem Menadionbisulfit (Dohyfral®). Im Gegensatz zu 2 ungeschützten MSB-Präparationen, welche bei Wärmebelastung ca. 60 % ihrer ursprünglichen Wirkung verloren, waren die Menadiolester temperaturstabil.

Summary: A bioassay of vitamin K is described, based on the prothrombin clotting time of 3-week-old, vitamin-K-depleted, and cumatetralyl-sensitized male broiler chicks, using a homologous thrombokinasen preparation. With this test it could be shown that the diacetate and dibutyrate esters of menadiol are vitamin-K-active. The bioactivity of menadione from these menadiolesters amounted to about 70 % of the standard menadione from a coated menadione sodium bisulfite (Dohyfral). Menadiol seems to be temperature-resistant under such conditions, whereby two uncoated MSB preparations lost about 60 % of their activity.

Schlüsselwörter: Vitamin K, Menadion, Menadiol, Bioverfügbarkeit, Stabilität, Geflügel

Key words: vitamin K; menadione; menadiol; bioavailability; stability; poultry

Einleitung

Zusammensetzung und Herstellung heutiger Mischfuttermittel für Geflügel machen einen Zusatz von Vitamin-K-Präparaten notwendig, um Mangelerscheinungen zu vermeiden. Hohe Vitamin-A-Konzentrationen im Futter und eventuell Sulfonamide bzw. deren Derivate als Kokzidiostatika wirken antagonistisch zu Vitamin K und daher „bedarfserhöhend“. Die natürlichen K-Vitamine Phyllochinon (K_1) und Menaquinon (K_2) kommen derzeit als Futterzusatz nicht in Frage, so daß allgemein die wasserlöslichen Derivate des 2-Methyl-1,4-Naphthochinons (Menadion, Vitamin

In memoriam Prof. Dr. Hermann Zucker

K₃) zum Einsatz gelangen. Handelsübliche Präparate sind das MSB (Menadion-Natrium-Bisulfit) sowie das MPB (Menadion-Dimethyl-Pyrimidinol Bisulfit), deren Vitamin-K-Wirksamkeit sich proportional ihrem Menadion-Gehalt verhält (3). Beide Menadion-Derivate sind zwar wesentlich stabiler in Futtermischungen als Menadion selbst oder Vitamin K₁, sie sind jedoch oxidationsempfindlich. Pelletieren und Lagerung führen zu einem Verlust an Vitamin-K-Aktivität im Futter aus zugesetzten Menadion-Derivaten, weshalb Verfahren der Stabilisierung, wie z.B. der Ummantelung von MSB, entwickelt wurden. Bereits 1939 haben aber Binkley et al. (siehe 10) auf das Menadiol (Vitamin K₄, 2-Methyl-1,4-Naphthohydrochinon) bzw. dessen Vitamin-K-Aktivität und die gute Stabilität der Menadiolester hingewiesen.

Ziel der Untersuchungen war es daher, die biologische Verfügbarkeit von Menadiol als Diacetat und als Dibutyrat sowie seine Stabilität gegen Wärmebelastung bei Hühnerküken zu überprüfen.

Material und Methoden

Thromboplastinzeit-Bestimmung

Der Vitamin-K-abhängige Schritt in der Prothrombin-Synthese ist die γ -Carboxylierung (7); reduziertes Vitamin K (Hydrochinon) dient als Coenzym für eine Carboxylase, welche die γ -Carboxylierung der Glutaminsäure bewirkt (8). Dabei entsteht Vitamin-K-2,3-Epoxid. Die am Epoxidzyklus (Wiederbildung von Hydrochinon) beteiligten Enzyme Epoxid-Reduktase (4) und NAD(P)H-Quinon-Dehydrogenase (9) werden durch Dicumarin und dessen Derivate gehemmt. Auf diesem Prinzip beruht die biologische Prüfung kleinster Menadionzusätze zum Futter

Tab. 1. Vitamin-K-arme Basalration (Zusammensetzung [%]).

Sojafeinmehl	40,50	Kochsalz	0,40
Mais	20,00	DL-Methionin	0,20
Sojaöl	2,00	Glycin	0,12
Maisstärke	33,50	Vitamin Vormischung*	0,18
Dicalciumphosphat	2,50	Spurenelement	
Calciumcarbonat	0,50	Vormischung**	0,10

* Vitamin-Vormischung (auf Sojafeinmehlbasis) enthält in 1,8 g (= pro kg Basalration): 1,5 mg Retinol, 17,5 μ g Cholecalciferol, 10 mg α -DL-Tocopherolacetat, 3 mg Riboflavin, 10 μ g Cobalamin, 5 mg Ca-Pantothenat, 25 mg Nikotinsäure, 200 mg Cholinchlorid.

Die Vitaminisierung wurde bewußt knapp gewählt, um mögliche Vitamin-K-Einschleppungen durch andere Vitaminpräparate zu minimieren. Der Zusatz weiterer Vitamine als oben angegeben hat sich für den Versuchszweck als unnötig erwiesen.

** Spurenelement-Vormischung enthält in 1 g (= pro kg Basalration): 101 mg Fe (aus Eisenfumarat), 80 mg Zn (aus Zinkacetat), 80 mg Mn (aus Mangansulfat), 12 mg Cu (aus Kupferacetat), 2,5 mg J (aus Kaliumjodid), 1 mg Co (aus Cobaltsulfat), 0,5 mg Se (aus Natriumselenit), 5 mg F (Natriumfluorid) und 70 mg Mg (aus Magnesiumoxid).

Die verschiedenen Vitamin-K-Präparate und Cumatetralyl wurden als Vormischungen auf Sojafeinmehl zu Lasten dieser Komponente in die Versuchsrationen eingebracht.

Tab. 2. Versuch I: Versuchsanlage und Ergebnisse. Alle Rationen mit 15 ppm Cumatetralyl, 2 × 7 Tiere/Versuchsgruppe; Vorperiode: 21 Tage, LM bei Versuchsbeginn: 503 g, Versuchsdauer: 15 Tage; TPZ: Mittelwert aus 7 Tagesmittelwerten von je 5 Tieren.

Versuchsgruppe	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)
ppb Menadion												
aus MPB	30	60	120	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aus Menadioldiacetat	—	—	—	30	60	120	—	—	—	—	—	—
aus MSB (Dohyfral®)	—	—	—	—	—	—	30	60	120	—	—	—
aus Menadioldibutylrat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30	60	120
Mortalität [%]	29	36	14	43	21	7	29	7	7	50	36	7
LMZ [g]	377	341	525	370	320	381	233	350	416	326	457	423
g Futter/g LMZ	3,3	3,3	2,3	3,2	3,4	3,0	3,6	3,1	3,1	3,5	2,9	2,9
TPZ [s]	235	203	175	259	204	191	223	192	158	261	214	194

LM: Lebendmasse; LMZ: Lebendmassezunahme; TPZ: Thromboplastinzeit; MPB: Menadiopyrimidinolbissulfit; MSB: Menadiolbissulfit.

(30–120 ppb) anhand ihrer Wirkung auf die mit homologem Thromboplastin gemessene Thromboplastinzeit (TPZ) von Cumatetralyl (Dicumarinderivat)-sensibilisierten und Vitamin-K-depletierten Broilern. Das Verfahren ist bereits im Detail beschrieben (5, 6). Hierzu werden 1 Tag alte Broilerhahnenküken (Lohmann B 975) für 3 Wochen mit einem Vitamin-K-armen Mischfutter (Tb. 1) gefüttert, dem 1 ppm Cumatetralyl (CT, Racumin, Bayer, Leverkusen) zugesetzt ist. Während der 2wöchigen Versuchsphase werden die Blutproben zwischen den Tagen 6–15 durch Punktion der V. cut. ulnaris gewonnen. Die Ermittlung der TPZ erfolgte mit Hilfe eines Coagulometers nach Schnitger und Gross (Typ 410 A 4 B) der Fa. Amelung, Lemgo.

Versuch I

In Versuch I wurden die Präparate MPB (Hetrazeen; 22,5 % Menadion; Randstad Branchstone, Soest, Holland), MSB ummantelt (Dohyfral®; 25 % Menadion, Duphar B.V., Amsterdam, Holland), Menadioldiacetat und Menadioldibutyrat (67,4 bzw. 55,0 % Menadionäquivalent, BASF, Ludwigshafen) eingesetzt. Alle Präparate wurden in der Standardkonzentration 30, 60 bzw. 120 ppb dem Futter (Tab. 1) mit 15 ppm CT eingemischt (Tab. 2). Jeweils 5 Blutproben/Versuchsgruppe (2 × 7 Tiere) wurden an den Tagen 6, 7, 8, 10, 12, 13 und 14 entnommen. Ziel des Versuches war es, erste orientierende Aussagen über eine Vitaminwirksamkeit von Menadioldiacetat bzw. -dibutyrat zu erhalten und die Standardsubstanz (MSB oder MPB) für die folgenden Versuche auszuwählen.

Versuch II

In Versuch II wurden eine Wertbemessung der beiden Menadiol-Präparationen im Vergleich zu MSB (Dohyfral®) sowie eine Stabilitätsprüfung der Menadiol-Präparationen und 2 weiterer MSB-Präparate (MSB 1 = Entwicklungspräparat und MSB 2 = Produkt aus dem Handel) vorgenommen (Tab. 3). Zur Stabilitätsprüfung wurden die Präparate in einen Prämix, der später mit 0,1 % dem Futter zugesetzt wurden, eingemischt und für 6 Tage und 16 h bei 37 °C und 100 % relativer Feuchte im Trockenschrank aufbewahrt. Der Prämix bestand aus 20 % Dicalciumphosphat, 10 % Spurenelement-VM (s. Tb. 1), 69,9 % Sojafineinmehl und dem Vitamin-K-Präparat. Die insgesamt 20 Versuchsrationen wurden an je 5 × 12 Broiler verfüttert. Blutentnahmen erfolgten an den Tagen 5, 6, 8, 10, 11, 12, 13 und 15 (insgesamt 8) an jeweils 5 Tieren/Versuchsgruppe. Die Menadioldosierung wurde entsprechend dem Schätzwert aus Versuch I um 1,15 gegenüber den Standarddosierungen erhöht.

Versuch III

In Versuch III wurde die vergleichende Wertbemessung von Menadioldiacetat und Menadioldibutyrat sowie MSB 1 gegenüber dem Standard MSB (aus Dohyfral®) auf Rationsgrundlagen mit 10 und 15 ppm CT durchgeführt (18 Versuchsgruppen mit je 4 × 10 Tieren). Die Dosierungen der Prüfpräparate wurden aufgrund der in Versuch II ermittelten Titer erhöht, um Standardgerade und Prüfgeraden besser zu zentrieren (Tab. 5). Blutproben wurden an den Versuchstagen 7, 8, 10, 11, 12, 13 und 15 gewonnen (pro Tag und Versuchsgruppe 4).

Versuchsauswertung

Von allen während eines Versuchstages ermittelten TPZ-Werten einer Versuchsgruppe wurde ein Mittelwert gebildet, aus diesen wurden der Versuchsgruppenmittelwert sowie die Regressionsgeraden errechnet. Die Titer der Testsubstanzen wurden für die Versuche II und III nach einem statistischen Verfahren (1) ermittelt, welches auf einem Vergleich der Steigung der jeweiligen Regressionsgeraden bei gleichzeitiger varianzanalytischer Prüfung der Zulässigkeit der Wertermittlung (Abweichung von Linearität und Parallelität) beruht.

Tab. 3. Versuch II: Versuchsanlage und Ergebnisse. Alle Rationen mit 15 ppm Cumatetralyl, 5 × 12 Tiere/Versuchsgruppe; Vorperiode: 21 Tage, LM bei Versuchsbeginn: 514 g, Versuchsdauer: 15 Tage; TPZ: Mittelwert aus 8 Tagesmittelwerten von je 5 Tieren.

Teil I: Vitamin-K-Prämix ohne Wärmebelastung*											
Versuchsgruppe	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11) (12)
ppb Menadion	30	60	120	—	—	—	—	—	—	—	—
aus MSB (Dohyfral®)	—	—	—	34,5	69	138	—	—	—	—	—
aus Menadioldiacetat	—	—	—	—	—	—	51,75	103,5	—	—	—
aus Menadioldibutyrat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aus MSB 1	—	—	—	—	—	—	—	—	45	90	—
aus MSB 2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	45 90
Mortalität [%]	43	22	18	47	28	27	27	20	40	28	35 25
TPZ [s]	155	124	103	158	137	122	155	135	144	123	152 134
Teil II: Vitamin-K-Prämix nach Wärmebelastung*											
Versuchsgruppe	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)			
ppb Menadion	51,75	103,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aus Menadioldiacetat	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
aus Menadioldibutyrat	—	—	51,75	103,5	—	—	—	—	—	—	—
aus MSB 1**	—	—	—	—	—	45	90	—	—	—	—
aus MSB 2***	—	—	—	—	—	—	—	—	45	90	—
Mortalität [%]	43	40	35	22	58	52	48	43	52	48	43
TPZ [s]	147	124	153	131	181	153	190	170	153	190	170

* Die Menadion-Präparationen wurden über eine Vormischung (0,1 %) auf der Basis von Sojafeinmehl mit 20 % Dicalciumphosphat und 10 % einer Spurenelementmischung (siehe Fußnote 2 zu Tabelle 1) in die Mischung eingebracht. Wärmebelastung: 37 °C für 6 Tage und 16 Stunden, rel. Luftfeuchte ca. 100 %.

** MSB 1: Menadionbisulfit, nicht gecaoetetes Entwicklungsprodukt.

*** MSB 2: Menadionbisulfit aus dem Handel, nicht gecaoet.

LM: Lebendmasse; TPZ: Thromboplastinzeit; MSB: Menadionbisulfit.

Ergebnisse

Die Ergebnisse von Versuch I finden sich in Tabelle 2. Obwohl die Mortalitätsrate sicherlich durch die Manipulation an den Tieren (Blutentnahme) beeinflusst war, spiegelt sie verschiedene Menadionkonzentrationen recht gut wider. Unterschiede zwischen den Präparaten und den Menadiondosierungen/Präparat lassen sich aber aus den zootechnischen Parametern Verluste, Lebendmassezunahme und Futterverwertung kaum ablesen. Deshalb wird auch auf die Wiedergabe der letztgenannten Parameter in den Versuchen II und III verzichtet.

Mit ummanteltem MSB wurden die niedrigsten TPZ-Werte erhalten, gefolgt von MPB, Menadioldiacetat und Menadioldibutyrat. Aufgrund der geringen Tierzahl dieses ersten Versuches sowie der dadurch bedingten mehrfachen Blutentnahme bei einzelnen Tieren ist eine statistische Auswertung nicht gerechtfertigt. Ein relativer Vergleich der summierten TPZ-Werte der Vitamin-K-Präparate läßt erkennen, daß Menadion aus MPB geringfügig weniger biologisch aktiv war (ca. 7 %) als Menadion aus MSB und daß die beiden Menadiolpräparate ihrerseits gleichwertig im Mittel etwa 15 % weniger wirksam waren.

Deshalb wurde die Menadiondosis aus Menadiol für Versuch II um den Faktor 1,15 gegenüber den Standarddosierungen erhöht. Da die MSB-Dosierungen etwas größere Differenzen zwischen den einzelnen TPZ-Werten als die MPB-Konzentrationen erkennen ließen, wurde MSB als Standardsubstanz für die nachfolgenden Versuche ausgewählt.

In früheren Versuchen erschien Menadion aus MPB ebenfalls gleichermaßen bioverfügbar wie Menadion aus MSB, allerdings war die Steigung der MPB-Regressionsgeraden geringer (3).

In den Versuchen II (Tab. 3) und III (Tab. 5) war eine statistische Wertbemessung der Vitamin-K-Präparate anhand der TPZ-Regressionsgeraden, bezogen auf den Logarithmus der Menadion-Konzentration im Futter, möglich, da alle Einzelwerte voneinander unabhängig gewonnen wurden. Die Prüfung zeigte, daß keine signifikanten Abweichungen von Linearität und Parallelität der Wirkungsgeraden auftraten, die Wertbemessung deshalb zulässig war.

Tab. 4. Biologische Menadionäquivalenz, Versuch II. Menadion-Titer in % der Menadion-Wirkung von Menadionbisulfit (Dohyfral®) auf die Thromboplastinzeit.

	Titer	Relativer Titer nach Wärmebelastung
Menadioldiacetat	60	
Menadioldiacetat, wärmebelastet	66	(110)
Menadioldibutyrat	50	
Menadioldibutyrat, wärmebelastet	54	(108)
MSB 1	80	
MSB 1, wärmebelastet	33	(41)
MSB 2	60	
MSB 2, wärmebelastet	21	(35)

Tab. 5. Versuch III: Versuchsanlage und Mortalität. 4 × 10 Tiere/Versuchsgruppe; Vorperiode: 21 Tage, LM bei Versuchsbeginn: 516 g; Versuchsdauer: 15 Tage.

Versuchsgruppe	Teil I: 10 ppm Cumatetralyl								
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
ppb Menadion									
aus MSB (Dohyfral®)	30	60	120	—	—	—	—	—	—
aus Menadioldiacetat	—	—	—	90	180	—	—	—	—
aus Menadioldibutyrat	—	—	—	—	—	100	200	—	—
aus MSB 1	—	—	—	—	—	—	—	66	132
Mortalität [%]	28	20	5	43	31	20	13	19	30
Teil II: 15 ppm Cumatetralyl									
Versuchsgruppe	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)	(16)	(17)	(18)	(19)
ppb Menadion									
aus MSB (Dohyfral®)	30	60	120	—	—	—	—	—	—
aus Menadioldiacetat	—	—	—	90	180	—	—	—	—
aus Menadioldibutyrat	—	—	—	—	—	100	200	—	—
aus MSB 1	—	—	—	—	—	—	—	66	132
Mortalität [%]	38	50	30	30	31	36	29	45	31

LM: Lebendmasse; TPZ: Thromboplastinzeit; MSB: Menadionbisulfit; MSB 1: nicht gecoatetes Entwicklungsprodukt.

MSB 1 (Entwicklungsprodukt) und MSB 2 (Handelsprodukt) erreichten nur 80 bzw. 60 % der Menadion-Wirksamkeit von MSB-Dohyfral® (Tab. 4). Unter den gleichen Bedingungen (15 ppm CT) von Versuch III wurde der Titer des unbelasteten Produkts MSB 1 mit 81 % (95%-Vertrauensbereich: 57–116 %) bestätigt (Tab. 6). MSB 1 und 2 waren nicht ummantelt, so daß in einer eventuell zu starken Ummantelung dieser Produkte keine Erklärung für die geringere Wirksamkeit gefunden werden kann. Ähnliche Unterschiede zwischen MSB-Präparaten waren je nach Herkunft bereits in früheren Untersuchungen aufgetreten (2). Durch Wärmebelastung verloren die beiden MSB-Präparate 60–65 % ihrer Vitaminwirkung. Verluste in dieser Größenordnung sind ebenfalls aus früheren Untersuchungen bekannt (2).

Die Versuche II und III bestätigen, daß Menadiol Vitamin-K-wirksam ist (Tab. 3 bis 6). Sie zeigen weiter, daß die Menadiolpräparationen Diacetat und Dibutytrat offensichtlich unter den gewählten Bedingungen temperaturstabil sind. In Versuch III (bei 15 ppm CT) lagen die Schätzwerte der biologischen Menadion-Verfügbarkeit aus den Menadiolestern mit 67 bzw. 69 % nahe beieinander und höher als in Versuch II mit 50 (Dibutytrat) bzw. 60 % (Diacetat). Der 95%-Vertrauensbereich der Wertbemessung in Versuch III reicht von 44 bis 102 %.

Die Wertbemessung für Menadion aus Menadioldiacetat nach Wärmebelastung (Tab. 4) erreicht mit 66 % nahezu den in Versuch III ermittelten Titer (Tab. 6).

Etwas anders verhalten sich die in Versuch III bei nur 10 ppm CT ermittelten Titer. In diesen Versuchsgruppen waren auch eine geringere Mortalitätsrate als bei 15 ppm CT aufgetreten (Tab. 5). MSB 1 wird jetzt de facto gleich gut bewertet wie der Standard (Tab. 6). Die Titer der Menadiolester erfahren hingegen kaum eine Änderung.

Deutlich werden die beschriebenen Verhältnisse in Abbildung 1. Die geringere Varianz der Einzelwerte bei 10 ppm CT bewirkt eine engere Beziehung zwischen logarithmierten Menadion-Konzentrationen des MSB-Standards und der TPZ und damit auch einen kleineren Vertrauensbereich (Menadiolester: 52–96 %) des wertbestimmenden Menadion-Titers (69 % für Menadioldiacetat, 71 % für Menadioldibutytrat).

Diskussion

Die Bestimmung der TPZ mit homologem Thromboplastin bei CT-sensibilisierten Küken stellt offensichtlich ein brauchbares System zur Bestimmung der Vitamin-K-Wirksamkeit von Vitameren dar (5, 6).

Tab. 6. Biologische Menadionäquivalenz, Versuch III. Menadion-Titer in % der Menadion-Wirkung von Menadionbisulfit (Dohyfral®) auf die Thromboplastinzeit.

Cumetetralyl [ppm]	Titer 10	Titer 15
Menadioldiacetat	69	69
Menadioldibutytrat	71	67
MSB 1	95	81

Die Verwendung eines Coagulometers sowie die Reduktion der CT-Belastung von 15 auf 10 ppm erhöhen die Aussagegenauigkeit dieses Testsystems. Eine Beeinträchtigung des Tests bzw. seiner Auswertbarkeit durch K-Antagonisten und eine dadurch möglicherweise erwartbare zu geringe Steigung der Standardgeraden (11) wurde nicht beobachtet.

Die Wiederholbarkeit der Ergebnisse von Versuch zu Versuch läßt den Schluß zu, daß Menadiolester eindeutig Vitamin-K-wirksam sind, daß ihr Menadionanteil aber doch ca. 30 % schlechter verwertet wird als Menadion aus MSB (ausgenommen MSB2 in Versuch II). Eine ungenügende intestinale Spaltung der Esterbindung scheint ursächlich unwahrscheinlich, für eine Benachteiligung des Menadiols bei der Resorption oder bei der enzymatischen Umwandlung zum Hydrochinon liegen keine Anhaltspunkte vor. Eine Abklärung muß späteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Beide Menadiolester wurden als Rohprodukte der chemischen Synthese ohne besondere galenische Formulierung eingesetzt, dies mag zu ihrer geringeren Bioverfügbarkeit beigetragen haben.

Besonders hervorzuheben ist jedenfalls die Wärmestabilität der Menadiolester unter Prüfbedingungen, bei denen ebenfalls nicht durch Coating geschützte MSB-Präparate 60–65 % ihrer ursprünglichen Wirksamkeit verlieren. Hinsichtlich des MSB werden ältere Aussagen bekräftigt (2).

Durch Menadiol eröffnen sich Chancen für die Mischfutterproduktion, die bisher mit Zusätzen wenig stabiler K-Vitamine im 10- bis 20fachen Bedarfsbereich arbeitet. Menadiol erfüllt aus der Mischfuttertechnologie ableitbare Forderungen hinsichtlich Stabilität nach Wärme- und Wasserdampfeinwirkung, die eine gute Pelletiereignung erwarten läßt.

Danksagung

Die Autoren danken Frau Elisabeth Stadler für technische Hilfe bei der Versuchsdurchführung, der Fa. BASF, Ludwigshafen, für finanzielle Unterstützung und die Bereitstellung der Menadiolester.

Literatur

1. Cavalli-Sforza L (1969) Biometrie. Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik (2. Auflage). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
2. Grimm L, Tiews J (1972) Untersuchungen zu Stabilität verschiedener Vitamin-K-Präparationen im Mischfutter. 28/II Sonderheft Landwirtschaftliche Forschung 123:514
3. Gropp J, Bomhard E, Schulz V, Busch L, Wetzel A (1975) Zur Bestimmung von Vitamin K Aktivität im biologischen Verfahren. 3. Mitt Vergleichende Stabilitätsuntersuchungen von Menadion-Natrium-Bisulfit und Menadion-Pyrimidinol-Bisulfit. Z Tierphysiol Tierern Futtermittelkde 34:325
4. Matschiner JT, Zimmermann A, Bell RG (1974) The influence of Warfarin on Vitamin-K-Epoxide Reductase. Thromb Diath Haemorrh Suppl 57:45
5. Mehringer W (1986) Vergleich der biologischen Aktivität und Stabilität verschiedener Menadion- und Menadiolpräparationen. Vet Med Diss, Universität München
6. Schulz V, Bomhard E, Gropp J (1975) Zur Bestimmung von Vitamin K Aktivität im biologischen Verfahren. 2. Mitt Zur Entwicklung eines Testverfahrens an Hühnerküken. Z Tierphysiol Tierern Futtermittelkde 34:352

7. Suttie JW, Jackson CM (1977) Prothrombinstructure, Activation and Biosynthesis. *Phys Rev* 57/1:1
8. Suttie JW (1982) A proposed mechanism for vitamin K dependent γ -carboxylation reaction of glutamic-acid. *Nutr Rev* 40:311
9. Wallin R, Gebhardt O, Prydz H (1978) NAD(P)H-dehydrogenase and its role in the vitamin K dependent carboxylation reaction. *Biochem J* 169:95
10. Weichert J (1965) Vitamin-K-Gruppe, III. Chemie, S. 1039–1064 in: Fragner J: Vitamine, Chemie und Biochemie, Band II. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena
11. Weiser H, Kormann AW (1983) Biopotency of Vitamin K. *Internat J Vitamin and Nutr Res* 53:143

Eingegangen 7. September 1990

Für die Verfasser:

Prof. Dr. J. Gropp, Institut für Tierphysiologie, Veterinärstr. 13, 8000 München 22