

Ueber Vitaminuntersuchungen

Autor(en): **Jung, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **22 (1931)**

Heft 3

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983903>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ueber Vitaminuntersuchungen. *)

Von Dr. med. A. JUNG.

(Aus der Physiol.-chem. Anstalt der Universität Basel.)

Vorbemerkung. Hinsichtlich der Literaturzitate möchte ich darauf hinweisen, dass verschiedene sehr vollständige Zusammenfassungen existieren, von denen ich die folgenden anführen möchte:

W. Stepp: Die Vitamine, in Bethes Hb. der Physiologie, Bd. V, S. 1143, 1928. Stepp und György: Avitaminosen und verwandte Krankheitszustände, Springer, 1927. R. Berg, Die Vitamine, Verlag Hirzel, 1927. M. Schieblich, Vitamine, in Mangolds Hb. der Ernährung und des Stoffwechsels der landwirtschaftl. Nutztiere, Bd. I, S. 222, 1929. Für Vitamin D noch besonders: György, Rachitis und Tetanie, Springer, 1929. Ders. in Bethes Hb. d. Physiologie, Bd. XVI/2, S. 1609, 1931. Hess A. F., Rickets, Osteomalacie and Tetany, Philadelphia, 1929. Hinsichtlich des Gehalts der Nahrungsmittel an Vitaminen verweise ich auf: A. Scheunert, Der Vitamingehalt der deutschen Nahrungsmittel, I. Teil, Obst und Gemüse, 2. Aufl., Springer, 1930; 2. Teil: Mehl und Brot, Springer, 1930. Ferner: Vitamins in food materials, v. Sybil L. Smith, U. S. Dep. Agric., Circul. N° 84, Nov. 1929.

Ich habe hauptsächlich die Literatur der letzten Jahre berücksichtigt. Soweit mir die Originalien zugänglich waren, habe ich diese zitiert, sonst nach dem Chemischen Zentralblatt (abgekürzt als C). Ich kann dabei keinen Anspruch auf Vollständigkeit erheben.

Allgemeines.

Die Notwendigkeit der Vitamine für das Leben braucht hier wohl nicht weiter auseinandergesetzt zu werden. Ebenso, wie wir ohne *vollkommenes Eiweiss*, das alle Aminosäuren enthält, ohne eine Nahrung, die die notwendigen *Mineralstoffe* im richtigen Verhältnis besitzt, ohne die *Lipoide* im richtigen Mass nicht auskommen, so auch nicht ohne die *Vitamine*, die aber auch wieder in einem gewissen Gleichgewicht zu einander und zu den übrigen Nahrungsstoffen stehen sollen.

Die Schwierigkeit fängt nun schon bei der *Definition* an. Nach der Definition von Hofmeister versteht man unter Vitaminen vorläufig eine Gruppe von organischen Nahrungsbestandteilen, die im Pflanzen- und im Tierreich weit verbreitet vorkommend, weder den Eiweisskörpern, noch den Kohlehydraten, noch den Fetten streng zugerechnet werden können und trotz der kleinen Menge, in der sie in der Nahrung auftreten, für Wachstum und Erhaltung der tierischen Organismen unentbehrlich sind. Sie spielen vom kalorischen Standpunkt aus keine Rolle. Da alle Vitamine einen spezifisch-biologischen Effekt haben, kann man die Definition nach Stepp auch kurz so fassen: Wir verstehen unter Vitaminen spezifisch-biologisch wirksame organische Nahrungsbestandteile, die in minimalsten Mengen wirksam sind, fast von hormonartigem Charakter. Aber auch diese Definition ist heute schon revisionsbedürftig, indem das sogenannte Vitamin A scheinbar nur in seiner Vorstufe in der pflanzlichen Nahrung vorhanden ist und in der Leber umgewandelt wird (vergl. die Ausführungen unter Vitamin A).

*) Vortrag, gehalten an der Konferenz der Vorsteher der amtlichen Lebensmitteluntersuchungsanstalten, einberufen vom Eidg. Gesundheitsamt in Bern am 10. April 1931.

Weiter kann Ergosterin auch durch Bestrahlung der Haut ins Vitamin D umgebaut werden. Es ergeben sich teilweise Uebergänge zu den Hormonen, deren Vorstufen auch in der Nahrung zum Teil vorgebildet sein müssen. Andere Vitamine haben aber mit den Hormonen höchstens die Grössenordnung der wirksamen Dosis und vielleicht noch eine analoge Wirkung gemeinsam und können mit diesen den organischen Katalysatoren eingerechnet werden, zu denen auch die Fermente gehören. Schon vor mehreren Jahren hat der Zürcher Physiologe Hess für Vitamine den Namen Biokatalysatoren gebraucht¹⁾. (Für die Hormone wäre übrigens eine amtliche Kontrolle ebenso notwendig, wie für Vitamine. Denn Millionen werden für unwirksame Präparate ausgegeben.) Wir müssen also der Definition beifügen, dass einige Vitamine aus ihren Vorstufen (bei normalem Stoffwechsel) synthetisiert werden können und dann wenigstens diese Vorstufen in der Nahrung vorhanden sein müssen.

Eine Eigenschaft ist den Vitaminen gemeinsam, das ist ihr Einfluss auf das Wachstum. Das ist aber nicht ihre Besonderheit, sondern ein Ausdruck des Minimumgesetzes, dass das Wachstum sich nach dem Stoff richtet, der im Minimum vorhanden ist. Fehlt in der Nahrung z. B. Lysin, oder Cystin, so wird das junge Tier das Wachstum einstellen und wir können ganz gleiche Kurven bekommen, wie bei Vitaminversuchen. Ich möchte in der Beziehung besonders auf eine Arbeit von Abelin hinweisen²⁾, der feststellte, dass beim Rösten des Zwiebacks Lysin vermindert oder zerstört wird und dadurch Ratten das Wachstum einstellen und dieses auch dann kaum eintritt, wenn durch Hefezufuhr genügend Vitamin B₂ zugeführt wird. Hingegen brachte Lysinzufuhr das Wachstum wieder in Gang. Also auch an solche Faktoren muss man bei Vitaminuntersuchungen denken. Abelin sah, dass die Ratten fast durchweg einen starken Haarausfall zeigten, der durch Schilddrüsenzufuhr, durch Gabe von Hefe, von Lysin, von Cystin geheilt wurde. Seel sah ähnliche Wirkungen von Oxycholesterin³⁾. Also darf auch der Haarausfall, der oft bei Vitamin B₂-Mangel eintritt (vergl. unter B₂) nicht als spezifische Mangelkrankheit aufgefasst werden. Die gleiche Funktion kann eben oft auf den verschiedensten Wegen gefördert oder geschädigt werden.

Daraus folgt, dass man zwar alle Vitamine durch ihre Wirkung auf das Wachstum nachweisen kann, dass aber dabei als unbedingte Grundlage alle Bedingungen zu normalem Gedeihen gegeben sein müssen, mit Ausnahme der Zufuhr des zu untersuchenden Vitamins. Das verlangt eventuell die Durchführung mehrerer Versuche mit genügenden Kontrollen. Es ist also zusammenfassend darauf zu achten, dass die Haltung der Tiere optimal ist, dass genügend vollwertiges Eiweiss, in richtigem Verhältnis zu Fetten

¹⁾ Ztschr. Physiol.-Chem., **127**, 196, 1923. Vergl. ¹⁶⁾.

²⁾ Ztschr. f. Kinderheilkunde, **50**, 465, 1930; Dermatol. Wochenschr. 1930, Nr. 40, S. 1475.

³⁾ Arch. exp. Path., **133**, 129, 1928.

und Kohlenhydraten, eine richtige Mineralstoffmischung (in der besonders auch die biologisch sehr wichtigen Schwermetallkatalysatoren Fe(2) und Cu, wahrscheinlich auch Mn und Zn enthalten sein müssen) und die notwendigen anderen Vitamine vorhanden sind. Die zu untersuchende Substanz darf diese Verhältnisse nicht stören. Gerade diesem letzteren Punkt wird vielfach zu wenig Aufmerksamkeit zugewendet. Weiterhin ist die Psyche der Tiere zu berücksichtigen, die einen grossen Einfluss auf die Ernährung ausübt. Die Tiere sollen möglichst nicht brüsk in den Versuch genommen werden, sondern sich an die neuen Bedingungen gewöhnen können, so besonders an die Hand der Fütterin. Je besser sich die beiden verstehen, desto besser wird das Versuchsergebnis. Darauf kann man nicht genug achten und diese Fähigkeit kann nicht gelernt werden, sie muss da sein. Es gibt nicht leicht wieder ein Gebiet der biologischen Untersuchungen, das so mit der ganzen Frage der Ernährung und des Stoffwechsels, der normalen und pathologischen Anatomie und Physiologie zusammenhängt, in Physik und Chemie hineinreicht, wie gerade das Gebiet der Vitamine. Es ist daher zu fordern, dass solche Untersuchungen an Instituten gemacht werden, die auch sonst in ähnlicher Richtung arbeiten und wo diese Versuche nicht nebenbei gemacht werden, sondern nach und nach mit besonders ausgesuchten Hilfskräften ein organischer Apparat entsteht, der ein zuverlässiges und rationelles Arbeiten gestattet. Diese allgemeinen Bemerkungen mögen genügen.

Ich will nun übergehen zur Besprechung der einzelnen Vitamine. Die Nomenklatur ist nicht einheitlich, ich kann aber nicht auf die verschiedenen Bezeichnungen eingehen, sondern werde mich an die am meisten gebrauchte Nomenklatur halten.

Es werden gegenwärtig mindestens 6 Vitamine genannt:

1. Vitamin A, das antixerophthalmische Vitamin,
2. Vitamin B₁ oder F, das antineuritische Vitamin,
3. Vitamin B₂ oder G, das antidermatitische oder Antipellagra-Vitamin,
4. Vitamin C, das antiskorbutische Vitamin,
5. Vitamin D, das antirachitische Vitamin,
6. Vitamin E, das Antisterilitätsvitamin.

Vitamin A, D und E sind fettlöslich, die beiden B und C wasserlöslich. Von manchen wird das frühere Vitamin B noch in mehr Faktoren aufgespalten, die aber noch keine praktische Bedeutung erlangt haben. Ebenso ist das Vitamin E so weit verbreitet, dass es praktisch nicht in Betracht kommt für die menschliche Ernährung. Seine Untersuchung ist auch noch viel komplizierter, als diejenige der andern, so dass ich gar nicht näher darauf eingehen werde. Z. B. berichten McCollum und Ernestine⁴⁾, dass

⁴⁾ Am. J. Hyg., 12, 503, 1930.

Ratten, die mit Milch und dextrinierter Stärke gefüttert wurden, sich nicht weiter fortpflanzen, dass aber eine Ergänzung des Futters durch 5% gekochte, getrocknete Leber oder durch Hefe die Fortpflanzung ermöglichte. Dies lag aber nicht am Vitamingehalt der Produkte, sondern an ihrem Eisen- und Kupfergehalt, denn die Salze dieser Schwermetalle hatten den gleichen Erfolg. Auf ähnliche Ergebnisse werden wir noch mehrfach zu sprechen kommen.

Ganz allgemein darf gesagt werden, dass eine gemischte Kost mit genügend frischen Gemüsen, Salaten, Obst eine ausreichende Vitaminzufuhr gewährleistet, wenigstens für den Gesunden, während Kranke wahrscheinlich einen höheren Bedarf haben. Ebenfalls gesteigert ist der Bedarf in der Schwangerschaft, Laktation und im Wachstum. Er kann aber auch da durch Vermehrung vitaminreicher Nahrungsmittel gedeckt werden, ohne dass man zu Produkten der Nahrungsmittelindustrie greifen muss. Umso notwendiger ist es, dass die Produkte der Nahrungsmittelindustrie daraufhin geprüft werden, ob ein angegebener Vitamingehalt wirklich vorhanden ist, da wohl kaum mit einem Nahrungsmittelbestandteil so viel schwindelhafte Reklame getrieben wird, wie mit den Vitaminen.

Es ist eine grosse volkswirtschaftliche Aufgabe, der minderbemittelten Bevölkerung, die oft weder Zeit noch Geld hat, reichlich Gemüse (und Obst) zu essen, Produkte zu verschaffen, die billig, vollwertig, *rasch zubereitet* sind und die oft vitaminarme Nahrung richtig ergänzen können (besonders auch hinsichtlich ihres C-Gehaltes). Die Vitamine dürfen kein Luxusartikel sein, sondern sollen der Volksgesundheit dienen. Solche Produkte sind vorwiegend in den Winter- und Frühjahrsmonaten notwendig, wo Obst und Gemüse zu fast unerschwinglichen Preisen feilgeboten werden, und kämen auch für die Versorgung der Truppen in längeren Diensten in Betracht.

Die Zucht.

Wir wollen die Besprechung der Methodik mit der Zucht beginnen. Das am meisten gebrauchte Tier ist die Ratte, und zwar die weisse oder schwarzweisse Art. Es kommt aber für die gewöhnlichen Untersuchungen nicht so sehr auf die Farbe an, als darauf, dass die Zucht ausgeglichen, homozygot, gesund ist und die jungen Tiere ein rasches Wachstum zeigen. Das sind Forderungen, die man nur in einer eigenen Zucht durchführen kann. Nach den Erfahrungen grösserer Forschungsinstitute auf diesem Gebiete darf man damit rechnen, dass die Zucht nach ca. 1 $\frac{1}{2}$ Jahren den Anforderungen entspricht. Fehler in der Ernährung machen sich oft erst in der 3. oder 4. Generation bemerkbar, d. h. nach 1 $\frac{1}{2}$ bis 2 Jahren. Die Zuchthaltung ist daher eine Lehre für sich und verlangt mehr Sorgfalt, als man gemeinhin annehmen könnte. Denn die Ratte ist ein sehr empfindliches Tier. Zu ihrer Ernährung wäre eine gemischte abwechslungsreiche Kost, wie sie z. B. Scheunert gibt, das Physiologische. Wir haben uns vor-

läufig aus technischen Gründen für eine Standardkost entschliessen müssen, wie sie z. B. Holtz in Göttingen gibt. Sie besteht aus: Reis 1500, Fleischmehl 500, Maisschrot 500, Weizenschrot 500, Milch 3 Liter, Salzgemisch eine Schaufel, das ganze wird mit Wasser breiig gerührt, gekocht und dann ein grosser Esslöffel frische Bierhefe darunter gemischt. Das Salzgemisch setzt sich zusammen aus:

NaCl . . .	5,2 (jodiert)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	16,2
MgSO ₄ . .	8,0	Ca - Laktat	39,0
NaH ₂ PO ₄ .	10,4	Eisencitrat	3,5
K ₂ HPO ₄ . .	28,6	MnSO ₄ .	Spur

Dazu erhalten die Tiere ganzen Roggen, der in den Torfmull gestreut wird und zweimal wöchentlich frisches Gemüse. Die Tiere müssen so viel bekommen, dass sie noch etwas übrig lassen. Gemüse und Roggen erhalten sie morgens, das Standardfutter nachmittags. Die Zuchttiere müssen sehr sauber, zweckmässig in Glaskäfigen, auf Torfmull gehalten werden. Die Käfige sind periodisch gründlich zu reinigen, zu desinfizieren und in gut ventilierbaren Räumen bei Temperaturen zwischen 20 und 22° aufzustellen. Für jedes Tier wird ein Stammbaum geführt.

Die für die B₁-Versuche benötigten Tauben ziehen wir vorläufig nicht selbst, halten uns aber eine Meerschweinchenzucht für die C-Versuche.

Das Vitamin A.

Das Vitamin A gehört zu den fettlöslichen Stoffen. Seine spezifisch biologische Wirksamkeit beruht in der Beeinflussung der Sekretion der Tränen-, Lid- und Speicheldrüsen, wobei bei der Eintrocknung der Hornhaut, die durch die fehlende Sekretion bewirkt wird, leicht eine Infektion eintritt, die zur Xerophthalmie führt und oft eine Trübung und Erweichung der Hornhaut und damit Erblindung zur Folge hat. Aber nicht nur die äussere Oberfläche des Auges wird beeinflusst, sondern auch der Sehpurpur, dessen Regeneration gestört ist. Besonders beim Menschen tritt die sogenannte Nachtblindheit auf, d. h. die Leute sehen in der Dämmerung nichts mehr. Als weitere Merkmale sind zu nennen: Blutkörperchenarmut und Blutplättchenschwund und eine stark gesteigerte Empfänglichkeit für Infektionen, die aber auch bei Mangel an andern Vitaminen auftritt. Sehr oft wird der Beginn der Xerophthalmie als Zeichen der A-Avitaminose aufgefasst. Nach verschiedenen Autoren und nach mündlicher Mitteilung von Holtz, der sich auch auf eine Mitteilung von v. Euler stützte⁵⁾, tritt sie nicht regelmässig auf, teilweise nur in ca. 10%. Er führte das auf die regelmässige Desinfektion zurück. Durch Zufuhr von Schilddrüsensubstanz kann der Eintritt der Erkrankung gefördert werden, es scheint aber nicht nur die Stoffwechselbeschleunigung daran beteiligt zu sein. Ebenso tritt

⁵⁾ Vergl. Euler u. Hellström, Bioch. Z., 203, 373, 1928.

bei einer Kost mit niedrigem Eiweissgehalt die Krankheit rascher auf, ist aber besser heilbar, als bei hohem Eiweissgehalt (McCollum). Ebenso tritt die Erkrankung später auf und verläuft milder bei Ratten, die reichlich der Luft und Sonne ausgesetzt sind. Da jedes Laboratorium in mancher Hinsicht verschiedene Bedingungen aufweist, können die widersprechenden Berichte über das Auftreten der Xerophthalmie teilweise verständlich werden. Da die Ratten Vitamin A speichern können in Leber, Nieren, Lungen und Fettdrüsen, geht es je nach der Vorfütterung 2—6 Wochen bis Wachstumsstillstand, 6—9 Wochen bis Xerophthalmie auftritt. Meist wird eine dauernde Gewichtsabnahme als Zeitpunkt der Vitaminfreiheit angenommen. Voraussetzung ist natürlich, dass das Futter sicher frei von Vitamin A ist. Die Beurteilung der Vitamin A-Wirkung geschieht meist nach der Wachstumskurve, die über 3 Monate verfolgt wird. Wird die Heilung der Xerophthalmie als Masstab genommen, dann ist eine kürzere Untersuchungsdauer möglich. Die Spezifität dieser Bestimmungsart ist aber noch nicht einwandfrei erwiesen.^{5a)}

Das Vitamin A ist chemisch noch nicht genau bekannt. Nach den Untersuchungen von Euler und Karrer, die sich auf mehrere Jahre erstrecken und noch fortgesetzt werden, scheint das Carotin zum mindesten eine Vorstufe des Vitamins zu sein oder wenigstens seine Bildung zu veranlassen. Es wirkt in Mengen von 0,01—0,02 mg noch auf das Wachstum ein. Die aus den verschiedensten Ausgangsmaterialien isolierten Carotine zeigten alle ungefähr die gleiche Wirksamkeit, so dass es nicht sehr wahrscheinlich ist, dass eine Verunreinigung die Wirksamkeit besitzt. Diese Verunreinigung soll höchstens 0,1% betragen können. Auf alle Fälle konnten die Autoren das Chlorophyll, Xanthophyll und das Phäophytin ausschliessen. Es fiel ihnen aber auf, dass die aus Lebertran isolierte wirksame Substanz nicht mit Carotin identisch ist.⁶⁾

Th. Moore⁷⁾ kommt zu dem Schluss, dass Carotin in der Leber in das Vitamin A umgebaut wird. Auch Wolff, Overhoff und van Eckelen⁸⁾ fanden, dass Carotin nicht mit dem Vitamin A identisch sei, aber vom Organismus zur Bildung von A gebraucht wird. Sie konnten zeigen, dass pflanzliche Produkte nur Carotin, kein Vitamin A enthalten, tierische Produkte (Eigelb, Butter) Carotin und Vitamin A, Leber und Lebertrane fast nur A. Eine Trennung ist dadurch möglich, dass aus einem Petrolätherextrakt (event. nach Verseifung) beim Ausschütteln mit 90%igem Alkohol Xantho-

^{5a)} Vergl. auch E. M. Nelson und Jones (J. biol. chem., **80**, 215, 1928).

⁶⁾ Vergl. Euler, Demole, Karrer und Walker, Helv. chim. act., **13**, 1078, 1930, wo auch die früheren Arbeiten zitiert sind. Ferner Rydbom (Biochem. Z., **227**, 482, 1930), Karrer, Helfenstein, Wehrli, Pieper und Morf (Helv. chim. act., **14**, 614, 1931), H. Wehrli, Inaug. Diss., Zürich, 1931.

⁷⁾ Biochem. J., **24**, 692, 1930.

⁸⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1930, S. 1428.

phyll und Vitamin A in den Alkohol übergehen, während Carotin im Petroläther bleibt. Sollten sich diese Versuche weiterhin bestätigen, so ist das Vitamin A selbst kein notwendiger Nahrungsbestandteil mehr, sondern seine Vorstufe. Da es aber scheinbar im Organismus leicht gebildet werden kann, ist das für die Ernährung, wenigstens bei normalem Stoffwechsel, gleichgültig. Bei pathologischen Fällen muss es dann eben als solches, d. h. als Butter, Milch, Eigelb, Leber, Lebertran zugeführt werden. Für diese Fälle wird dann eine getrennte Untersuchung auf Gehalt an Vitamin A oder einer Vorstufe vorzunehmen sein. Eine weitere Komplizierung entsteht dadurch, dass es noch nicht erwiesen ist, dass Carotin die einzige Vorstufe ist. Denn Seel⁹⁾ stellte aus Lebertran eine unverseifbare Fraktion dar, die in einer Menge von 0,01 γ noch wirksam, aber ausserordentlich empfindlich war gegen Luftsauerstoff¹⁰⁾. Er fand eine auffallende Aehnlichkeit im Spektrum zwischen diesem Produkt und oxydiertem Cholesterin, von dem 10 γ täglich nötig waren, um Xerophthalmie in 10 Tagen zu heilen, also eine ähnliche Menge, wie von Carotin. Auch japanische Forscher haben schon früher auf Beziehungen zwischen den Sterinen und dem Vitamin A hingewiesen, in letzter Zeit Kozo Kawakami und Ryang-ha Kimm¹¹⁾, die zu dem Schluss kommen, dass sowohl Carotin, wie «Biosterin» Vorstufen des Vitamin A sein können. Ich werde aber im folgenden diese Fragen nicht weiter berücksichtigen und unter «Vitamin A» sowohl das eigentliche Vitamin, wie dessen biologisch gleich wirksamen Vorstufen verstehen.

Vitamin A ist löslich in Lipoidlösungsmitteln: Alkohol, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Chloroform. Aus diesen Extrakten, nicht aber aus der ursprünglichen Substanz, kann es durch Aether extrahiert werden. (Gerade diese Löslichkeitsangaben werden zuerst revidiert werden müssen.) Das Vitamin A ist beständig gegen das Erhitzen, wenn dieses unter Sauerstoffabschluss stattfindet. Es ist sehr empfindlich gegen jegliche Oxydation, nicht aber gegen ultraviolettes Licht. Auch gegen Verseifung ist das Vitamin A beständig, vorausgesetzt, dass diese nicht in wässriger Lösung und unter Sauerstoffabschluss erfolgt. Haushaltübliches Kochen hat wenig Einfluss (Pflanzenmaterial!). Das Vitamin A kommt in der Natur weit verbreitet vor, sowohl im Tierreich, wie im Pflanzenreich. Unter allen Naturerzeugnissen hat der Dorschlebertran den höchsten Gehalt, etwa 10—20 mal mehr als eine gute Butter (Jones, Steenbock und Nelson), nach Stepp sogar mehr als 100 mal mehr. Aber sowohl die Butter, wie der Lebertran zeigen ausserordentlich starke Schwankungen im Vitamingehalt. Die verschiedenen Trane

⁹⁾ Arch. exp. Path., 159, 93, 1931.

¹⁰⁾ Im Tran scheinen Stoffe vorhanden zu sein, die das Vitamin A vor Oxydation schützen, vergl. die Untersuchungen von Poulsson (Arch. int. Pharmacodyn. et Thérap., 38, 200, 1930) über die Haltbarkeit von A und D in Lebertranen, die über 26 Jahre alt waren. Auch Seel berichtete über ähnliche Befunde.

¹¹⁾ Zit. nach C. 1930, II, 2797.

des Handels können um das zehnfache und mehr schwanken. Norwegen erkannte die Notwendigkeit der Standardisierung und gründete ein staatliches Vitamininstitut, das die norwegischen Trane standardisiert und unter Plombenverschluss in den Handel bringt. Es steht unter der Leitung von Poulsson. Auch in der Schweiz wird für diese norwegischen standardisierten Trane Propaganda gemacht. Auch andere Oele enthalten Vitamin A, aber z. B. das Olivenöl verliert den grösseren Teil davon beim Raffinieren. Schweinefett ist meist frei davon, da die Tiere nur wenig A im Futter haben. Durch die Herstellung des Schweineschmalzes durch Erhitzen und Rühren an der Luft wird auch der letzte Rest zerstört. Speck von Tieren, die reichlich Grünfutter bekamen, enthält dagegen reichlich Vitamin A. Dasselbe, was für das Schweinefett gilt, gilt auch für Milch und, da das Vitamin A (ebenso wie D) in der Fettfraktion sitzt, auch für Butter. Kühe, die mit Grünfutter gefüttert werden, liefern A-reichere Milch, als die mit Heu gefütterten; Sommermilch ist reicher daran, als Wintermilch. In gutem Heu, das nicht Wind und Wetter ausgesetzt war, ist noch reichlich A. Trotzdem zeigt Milch von Kühen, die auf der Weide waren, mehr A, als bei Stallfütterung. Von pflanzlichen Nahrungsstoffen sind die meisten im Handel befindlichen Oele fast völlig frei von A. Als wichtigste A-Quelle sind die grünen Pflanzenteile anzusehen, vor allem Spinat, die grünen Salate, Lattich, Grünkohl usw. Arm sind z. B. Bohnen und Erbsen, Blumenkohl, Wirsingkohl, Weisskraut, Rotkraut und die meisten Wurzelgemüse, mit Ausnahme der Karotten. Ziemlich reichlich ist A auch in verschiedenen essbaren Pilzen, besonders in Pfifferlingen enthalten. Unter den Früchten sind gute bis sehr gute Vitamin-A-Quellen die durch ausgesprochene Färbung ausgezeichneten Sorten: Brombeeren, Heidelbeeren, dunkle Kirschen (nicht die roten), blaue Pflaumen.

Nachweis des Vitamin A.

Der chemische Nachweis des Vitamin A durch eine wasserfreie Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform in einem ebenfalls wasserfreien Chloroformextrakt des Produktes ist unter Einhaltung ganz genauer Versuchsbedingungen bei einzelnen Produkten, wie z. B. Lebertran, brauchbar. Sie ist aber nicht spezifisch und scheint nach Karrer von vielen aromatischen Substanzen mit Doppelbindungen hervorgerufen zu werden, die mit dem Vitamin A nichts zu tun haben.

Die biologische Untersuchung auf Vitamin A wird meist an Ratten durchgeführt. Eine Nachprüfung an anderen Tierarten wird sich gelegentlich empfehlen. So untersuchten z. B. von Euler, Karrer und Rydbom¹²⁾ die physiologische Wirkung des Xanthophylls auch an jungen Hühnern.

Die Ratten werden im Alter von ca. 4—5 Wochen und einem Gewicht von 40—50 g auf ein Vitamin A freies Grundfutter folgender Zusammensetzung gesetzt:

¹²⁾ Helv. chim. acta, **13**, 1059, 1930.

Casein	18 0/0
Palmin	15 0/0
Stärke	57 0/0
Salzgemisch	5 0/0
Trockenhefe	5 0/0

Das Casein muss vollkommen Vitamin A-frei sein und wird zu diesem Zwecke mehrfach mit Alkohol eventuell auch mit Aether extrahiert. (300 g Casein werden mit ca. 2 L 95%igem Alkohol 3 mal 6 Stunden am Rückflusskühler gekocht, dann in gleicher Weise mit destilliertem Wasser behandelt und getrocknet. Wir extrahieren noch mit destilliertem Wasser, um das Casein auch für Vitamin B-Versuche verwenden zu können.)^{12a)}

Palmin, oder ein ähnliches Pflanzenfett, wird zur Entfernung der letzten Vitamin A-Spuren 8 Stunden auf dem kochenden Wasserbad unter Durchleitung von Luft erhitzt.

Die Stärke (wir verwenden Maisstärke) muss ebenfalls mit 70%igem Alkohol extrahiert sein.

Das Salzgemisch nach McCollum und Davis wurde schon oben bei der Nahrung der Zucht aufgeführt.

Als Trockenhefe verwenden wir med. Dauertrockenhefe der Cenoviswerke. Enthält sie Vitamin A, dann muss sie ebenfalls mit Alkohol extrahiert werden. (Die Extraktion von Stärke und Hefe erübrigt sich oft für die Vitamin A-Versuche, die Stärke muss jedoch meist für die Vitamin B-Versuche extrahiert sein, auf alle Fälle muss jede neue Lieferung auf Vitaminfreiheit geprüft werden.) Zwecks Zufuhr von Vitamin D wird dem Fett Vigantol zugesetzt (1 cm³ einer 10-fachen Verdünnung von Vigantol auf 300 g Fett). Eine Zugabe von Vitamin C erübrigt sich, da die Ratte bei einigermassen normalem Stoffwechsel das Vitamin (in der Leber) selber bilden kann. Dieses Grundfutter wird zu einem dickflüssigen Teig angemacht mit Wasser, auf einem Blech bei 37° während 8 Stunden getrocknet, wobei die Masse halbfest wird und in Stücke geschnitten den Ratten gegeben wird. Als Wasser erhalten sie gewöhnliches Trinkwasser.

Die Tiere werden einzeln in Glaskäfigen mit Drahtdeckeln gehalten. Sie werden zweimal wöchentlich gewogen und für jedes Tier eine besondere Kurvenkarte geführt. Die Tiere wachsen zunächst normal, nach einigen Wochen tritt Gewichtsstillstand und Abnahme ein. In vielen Fällen tritt die Xerophthalmie ein. Blieb das Wachstum mindestens 10 Tage stehen, so erfolgt die Zulage einer bestimmten Menge des auf seinen Vitamin A-Gehalt zu prüfenden Materials. Je nach der Höhe des A-Gehalts kommt nun das

^{12a)} Wir verwenden auch extrahiertes Casein der Firma Dr. A. Wander A.-G., Bern, und das nach Angaben von Holtz extrahierte Casein von Merck. Wie auf S. 177 näher ausgeführt, kann der Vergleich verschiedener Caseine wichtig sein. Vergl. Coward, Kley, Deyer und Morgan, *Biochem. J.*, **24**, II, 1952, 1930.

Wachstum der Tiere mehr oder weniger rasch wieder in Gang und verschwinden auch die übrigen Symptome des A-Mangels (struppiges Fell, Schläfrigkeit, Augenerkrankung). Enthält die zu prüfende Zulage nur sehr wenig oder kein Vitamin A, so verlieren die Tiere unter Verschlimmerung der übrigen Erscheinungen mehr und mehr an Gewicht und sterben schliesslich, wenn der Versuch nicht vorher abgebrochen wird. Sehr oft wird eine anfängliche Gewichtszunahme festgestellt, die aber auf einer Erhöhung, resp. Wiederherstellung des Appetits und dadurch vermehrte Aufnahme von Grundfutter bedingt wird. Die Versuche sind daher genügend lange fortzuführen, meist drei Monate, bei bekannten Stoffen kann auch in kürzerer Zeit standardisiert werden. Natürlich müssen Wirkungen anderer Art (Giftwirkung, wie z. B. bei Lebertran, wesentliche Veränderung der Korrelationen des Grundfutters, insbesondere durch Veränderung der Mineralzusammensetzung usw.) ausgeschlossen werden.

Hinsichtlich Reinlichkeit und Desinfektion müssen die Versuchstiere noch peinlicher besorgt werden als die Zucht.

Der Vitamin B - Komplex.

Das früher als einheitlich aufgefasste Vitamin B muss in mindestens 2 verschiedene Faktoren aufgeteilt werden (verschiedene Forscher behaupten, dass es mindestens 4 Faktoren seien). Um eine Verwechslung mit dem früheren B zu vermeiden, werden die beiden Faktoren vielfach als F und G bezeichnet, andere nennen sie B₁ und B₂, wobei unter B₁ oder F der antineuritische, unter B₂ oder G der antidermatitische, Antipellagra- oder Wachstumsfaktor verstanden wird. Die beiden Faktoren unterscheiden sich vor allem durch die Hitzebeständigkeit, indem B₁ oder F relativ hitzeempfindlich, der andere Faktor, wenigstens in saurer Lösung, hitzebeständiger ist. In stark alkalischer Lösung wird auch er in der Hitze, ja sogar bei Zimmertemperatur, zerstört. In vielen Nahrungsmitteln sind sie beide ungefähr gleichmässig verteilt, in andern überwiegt aber der eine, z. B. soll in der Banane fast nur B₂ enthalten sein, in der Bierhefe ist viel mehr B₁ enthalten als in der Presshefe, während B₂ in beiden weniger verschieden ist. Die in den älteren Arbeiten angegebenen Befunde von Vitamin B müssen in der Hinsicht gesichtet werden. Eine gewisse Schwierigkeit bestand bis jetzt darin, dass B₁ an Tauben, Reisvögeln oder Hühnern untersucht wurde, während B₂ an Ratten geprüft wird. Dadurch ist natürlich ein Vergleich erschwert. Es ist aber möglich durch Zufuhr von B₂ allein auch bei Ratten eine Polyneuritis zu erzeugen und dadurch am gleichen Tier beide Faktoren zu untersuchen. Es ist die getrennte Untersuchung beider Faktoren umso notwendiger, als B₂ eine ganz andere biologische Wirksamkeit hat als B₁ und es Lebensmittel gibt, bei denen der eine Faktor kaum vorhanden ist, so dass z. B. bei Prüfung an Tauben ein Fehlen von B gefolgert würde. Auf eine weitere Fehlerquelle machten Scheunert und Schieblich

aufmerksam,¹³⁾ dass Vitamin B - Untersuchungen von Grünfütter nicht an Tauben gemacht werden können, da die Taube Grünfütter nicht verwerten kann. Man muss daher an Hühnern untersuchen, die aber etwas weniger empfindlich sind, als Tauben, pro kg Körpergewicht berechnet, während sie absolut ungefähr 1 1/2 mal mehr brauchen als diese.

Das Fehlen des *Vitamin B₁*, des antineuritischen Faktors, ruft beim Menschen *Beriberi* hervor, eine Erkrankung, die hauptsächlich in den Ländern vorkommt, wo vorwiegend polierter Reis gegessen wird. Nach Untersuchungen in der japanischen Flotte musste ca. 1/3 des Trockengewichts der Nahrung aus Gerste bestehen, um vor *Beriberi* zu schützen.¹⁴⁾

Das *antidermatitische Vitamin*, das mit der Gesundheit der Haut und ihrer Anhangsorgane in Beziehung zu stehen scheint, dürfte ebenfalls von Bedeutung sein. Doch kennen wir hier den Bedarf noch nicht. Ob die menschliche *Pellagra*, die in Gegenden auftritt, wo fast ausschliesslich *Mais* gegessen wird, mit einem Mangel an diesem Vitamin zu tun hat, ist noch nicht entschieden. In der Therapie der Furunkulose ist Hefe ein altes Volksmittel. Ob dies mit dem Vitamingehalt der Hefe zusammenhängt, oder eventuell mit ihren fermentativen Eigenschaften, ist aber eine andere Frage, die m. W. noch nicht gelöst ist.

Das Vitamin B ist mit dem gesamten Stoffwechsel verknüpft, hauptsächlich aber mit dem Kohlehydratstoffwechsel und sein Bedarf steigt erheblich mit dem Kohlehydratgehalt der Nahrung und natürlich auch mit Ausnutzung derselben.¹⁵⁾ Das ist schon im Taubenversuch zu beachten, indem dafür gesorgt werden muss, dass die Tauben immer ungefähr gleichviel Kohlehydrate aufnehmen (polierten Reis). Werden die Kohlehydrate verdaulicher, z. B. durch Dextrinisierung oder durch feineres Vermahlen, dann steigt der B - Bedarf. Darauf scheint mir zurückzuführen zu sein, dass Scheunert in seinen Versuchen eher mehr Weizen-, Roggen-, resp. deren Mahlprodukte brauchte, als wir, da er den Reis bei 120° 8 Stunden lang erhitzt, während wir ihn nach dem Waschen bei 40° trockneten. Ebenso brauchten wir von Steinmetzkraftbrot etwas höhere Mengen als von Bircher-

¹³⁾ Zeitschr. f. Tierzüchtung und Züchtungsbiologie, 7, S. 315, 1927.

¹⁴⁾ Zit. nach Plimmer, Rosedale, Raymond und Lowndes, Biochem. J., 21, II, 1141, 1927.

¹⁵⁾ Vergl. die Untersuchungen von Randoïn (Zit. Chem. Zentralbl., 1930, II, 2912), der fand, dass die Avitaminose viel früher auftritt bei einer kohlehydratreichen, als bei einer fettreichen Diät. Einseitiger Zuckerzusatz oder Salzzusatz kann eine sonst ausreichende Diät unzureichend machen, jedoch bleibt das Nahrungsgleichgewicht erhalten, wenn Zucker und Salz in bestimmtem Verhältnis zugesetzt werden. Es sei auch an die Versuche von Gigon erinnert (Z. ges. exp. Med., 40, 1, 1924; Z. klin. Med., 101, 17, 1924; Helv. chim. acta, 8, 35, 1925; Gigon und Studer, Z. ges. exp. Med., 45, 655, 1925), der bei Zusatz von 10 g Glukose pro Tag (durch Pipette) zu Reis, Kleie und Wasser eine Taube nach 9 Tagen zu Grunde gehen sah, trotz der Kleie und ganz im allgemeinen fand, dass *Beriberi*, die durch geschälten Reis erzeugt wird, keine reine Avitaminose ist, da der Körper einseitig mit Kohlehydraten belastet wird.

brot, trotzdem beide aus dem gleichen Getreide gemahlen und vom gleichen Bäcker gebacken wurden und die Werte auf Trockensubstanz berechnet wurden.

Um Tauben vor Beriberi zu schützen brauchten wir:

	frisch	trocken
	g	g
<i>Steinmetzkraftbrot</i>	8—10	4,5—5,6
<i>Dr. Bircher-Schrotbrot</i>	8—9	4,3—4,8
<i>Schrotbrot</i> , aus dem gleichen Getreide, wie die vorigen, aber nicht nach dem Steinmetzverfahren gemahlen	7—8	3,8—4,3
<i>Zwieback</i> , aus Steinmetzbrot	6—7	5,6—6,5
<i>Korn</i> , aus dem diese Produkte gewonnen waren	5—6	4,5—5,4
« <i>Vitalinbrot</i> »	7—8	3,7—4,2
Dasselbe, aus unbestrahltem Vitalin-Mehl gebacken	6—8	3,4—4,5
Scheunert: Weizenkorn	6—7	
Roggenkorn	ca. 10	

Dasselbe dürfte für die Beurteilung des Zwiebacks gelten, dessen Kohlenhydrate natürlich noch leichter verdaulich waren als die des Brotes. Dieser Punkt bedarf hinsichtlich der Beurteilung des Einflusses von Hitze grösster Beachtung. Es scheint, dass der antineuritische Faktor durch das kurze Backen des Zwiebacks nicht nennenswert vermindert wurde. Weitere Versuche werden das beweisen müssen.

Wie ich oben schon sagte, beeinflusst der Mangel an B (da die meisten derartigen Untersuchungen vor der Trennung durchgeführt wurden, kann man nicht angeben, welcher der beiden Faktoren dabei mehr beteiligt ist) die gesamten Stoffwechselforgänge. Er setzt vor allem die Oxydationen herab, was sich in einem Sinken der Temperatur bemerkbar macht.¹⁶⁾ Die

¹⁶⁾ Ich möchte besonders auf die Versuche des Zürcher Physiologen Hess hinweisen, der die Ursache der Taubenberiberi nicht in einer Herabsetzung der Oxydationen schlechthin vermutet, sondern in der Störung einer Phase und zwar der, in welcher der molekulare Sauerstoff in Reaktion tritt. (Ztschr. Physiol. Chemie, **120**, 277, 1922, zusammenfassende Darstellung in D. med. W., **50**, 163, 1924). Er fand weitgehende Parallelen zwischen Beriberi und einer chronischen KCN-Vergiftung. Weiterhin haben sich insbesondere *Abderhalden* und seine Schüler intensiv mit dieser Frage beschäftigt, ich muss aber auf die eingangs erwähnten grösseren Zusammenfassungen hinweisen. Erwähnenswert scheinen mir aber noch die Arbeiten von *Verzár* und seinen Schülern (Pfl. Arch., **212**, 239, 1926; **214**, 421, 449, 1926; **206**, 659, 1924; Biochem. Z., **192**, 369, 1928; Klin. Wo., 1924, S. 1723), die bei Vitamin B-Mangel eine Hypertrophie der Nebennierenrinde, eine Hypofunktion der Schilddrüse und eine erhöhte Empfindlichkeit der Gewebe gegen die Wirkung von Schilddrüsenpräparaten fanden. Von ganz anderer Seite her fand *Abelin* (Biochem. Z., **228**, 165 ff., 1930), dass Ratten bei reichlicher Zufuhr von Vitamin B, aber auch der anderen Vitamine und insbesondere bei Zufuhr aller Vitamine, viel geringere Störungen im Grundumsatz und der Glykogenablagerung zeigten bei Verabreichung von Schilddrüsensubstanz, als die Kontrolltiere. Die Wirkung der Vitamine scheint in die Peripherie verlegt werden zu müssen. So würden sich auch die Befunde von *Verzár* in dem Sinne erklären lassen, dass durch den Mangel an Vitamin B eine so tief greifende Störung der Zelltätigkeit eintritt, dass auch die Thyreoidea (in diesem Falle als peripheres Organ) nicht mehr im Stande ist, ihre Hormone ausreichend zu produzieren, wodurch wieder sekundär weitere Stoffwechselstörungen eintreten. Dann besteht aber auch keine Berechtigung, die Vitamine mit den Hormonen in engere Beziehung zu bringen, als die übrigen Nahrungsstoffe, die

Kohlehydrate und Fette z. B. werden nicht mehr vollständig abgebaut, so dass eine Azidosis eintritt (trotzdem nach Hess auch die Säurebildung gehemmt ist). Es treten auch Sekretions- und Motilitätsstörungen im Magendarmkanal auf,¹⁷⁾ so hört die Salzsäuresekretion des Magens auf, der Kropf der Taube befördert die Nahrungsbestandteile nicht mehr weiter, die Bauchspeicheldrüse scheint weniger Insulin zu produzieren usw. Die Versuchstiere werden matt, die Tauben sträuben das Gefieder, die Nahrung wird verweigert. Der ganze Zustand wird von Kon und Drummond als Hungersymptom aufgefasst.¹⁸⁾ Lässt man Tauben hungern, dann bekommen sie keine Beriberi, was aber nach den oben genannten Autoren darauf zurückzuführen ist, dass dabei die Taube ihr Gewebe abbaut, das nach verschiedenen Autoren im «avitaminösen» Zustand noch reichlich Vitamin B enthält, das aber scheinbar erst beim Abbau der Gewebe für den Stoffwechsel frei wird. Geschälter Reis enthält andererseits auch die Salze und das Eiweiss der Kleie nicht mehr. Es handelt sich daher um mehr als ein Hungern, um eine einseitige Ernährung.¹⁹⁾ Tauben, die nicht mehr spontan fressen, müssen gefüttert werden, ebenso die Ratten, was ausserordentlich viel Mühe verursacht. Die Beriberi äussert sich in Krämpfen und Lähmungen, die durch Zufuhr von Vitamin B₁ rasch geheilt werden können.

Beim Fehlen von B₂ tritt ein Struppigwerden des Felles auf, es entstehen leicht Hautentzündungen, besonders auch in der Umgebung des Mundes und des Schwanzansatzes. Mehrfach wurde auch von uns eine leichte Konjunktivitis gesehen, die aber, im Gegensatz zur Xerophthalmie, den Augapfel gar nicht betraf und auf Pflege mit Borwasser wieder verschwand. Es kann ausgesprochene Brillenbildung eintreten, indem durch Entzündungen und Juckreiz die Tiere immer wieder kratzen. Wie Scheunert²⁰⁾ sahen wir diese Erscheinungen bei Ratten, die lange Zeit nur Mehl, teilweise mit Magermilch, bekommen hatten, besonders als wir ihnen ein Oel gaben, das uns Herr Prof. Kreis als «vitaminhaltig» deklariert übergeben hatte. Es gab eine sehr starke SbCl₃-Reaktion und war tranartig. Es hat möglicherweise den Vitamin B-Bedarf der Ratten plötzlich gesteigert, so dass die Krankheit zum Ausbruch kam. Durch Weglassen des Oeles und Gabe von reichlich Vollmilch verschwanden diese Erscheinungen rasch und die Tiere, die vorher ca. 2 1/2 Monate im Gewicht stillgestanden hatten, nahmen gut zu. Wir

ebenfalls zur Produktion und Wirkung der Hormone wichtig sind, eine Auffassung, die neuerdings auch Verzář vertritt. Es wird dann auch erklärlich, warum ein Ueberschuss der Vitamine A, B (und C) keine Wirksamkeit hat, denn eine Steigerung über die optimalen Wirkungsbedingungen hinaus findet scheinbar nicht statt. Eine Zufuhr vitaminreicher Produkte dürfte sich aber, worauf auch Abelin mehrfach hinweist, für Hyperthyreosen ganz besonders empfehlen.

¹⁷⁾ Vergl. Gal, Biochem. Ztschr., 225, 286; 227, 492, 1930.

¹⁸⁾ Biochem. J., 21, 632, 1927.

¹⁹⁾ Vergl. Gigon, a. a. O.

²⁰⁾ Krankheitsforschung, 5, H. 4, S. 268.

sahen diese Erscheinung aber nicht bei Tieren, die schon seit längerer Zeit Vigantol neben dem Mehl bekommen hatten. Ob es sich wirklich um eine B₂-Avitaminose handelte, können wir allerdings nicht sicher sagen, da wir keinen Heilversuch durch vermehrte B₂-zufuhr machten. Weizenkeimlinge, die aber arm sind an B₂, hatten keinen Einfluss, ebensowenig technisches Kasein (Merck) und Orangensaft.

Das Vitamin B ist in seiner *Konstitution* noch nicht aufgeklärt. Am nächsten scheinen ihm die Forscher Jansen und Donat in Niederländisch-Indien gekommen zu sein, die aus Reiskleie eine Fraktion erhielten, die an kleinen Vögeln untersucht, in einer Dosis von 2—4 γ vor Polyneuritis schützte. Sie glauben, dass es sich um ein Produkt von der Formel C₆H₁₀ON₂ handelt, das entweder einen Imidazol oder einen Pyrimidinring enthält. Sie konnten das salzsaure Salz, ferner ein Goldchloridsalz und das Pikrolonat kristallisiert erhalten. Jansen hat neuerdings das Verfahren verbessert und erhält aus 100 kg Reiskleie 3 g Substanz, die nach Tierversuchen ca. 25 % Vitamin enthielt.²¹⁾ Auch andere Forscher fanden stickstoffhaltige Basen in den wirksamsten Fraktionen. Kinnersley und Peters stellten ein Produkt dar, das sie Torulin nannten, und das in einer Dosis von 27 γ pro Tag Tauben vor Beriberi schützte. Beide Faktoren lassen sich an Lloyds Reagens (Fullers Erde, wasserhaltiges Aluminiumsilikat) adsorbieren und so z. B. von anderen Vitaminen trennen. Solche Adsorptionen im Verdauungstrakt können das Vitamin B der Resorption entziehen.

Der antineuritische Faktor ist hinsichtlich seiner Eigenschaften viel besser untersucht als der antidermatitische Faktor. Er ist löslich in Wasser, Alkohol, Methylalkohol und Salzsäure, Eisessig, Olivenöl und Oelsäure, schwer löslich ist er dagegen in absolutem Alkohol;²²⁾ unlöslich in Aether, Aceton, Chloroform, Essigäther und Benzol. Gegenüber Säuren ist er sehr beständig, während er durch Alkalien rasch zerstört wird. Er ist fällbar durch Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Gerbsäure, Pikrinsäure und die übrigen «Alkaloidreagenzien», nicht durch Bleiazetat.

Gegen Erhitzen auf 100° für 1—2 Stunden, ja sogar in gewissen Fällen auf 120° im Autoklaven für 1 Stunde ist er resistent²³⁾ und wird auch beim Backen nicht zerstört.²⁴⁾ Im Autoklaven bei 120° wird er aber nach 2 Stunden vernichtet. Es zeigte sich dabei, dass Extrakte empfindlicher sind als das ursprüngliche Material. Ozon, Sonnenstrahlen und ultraviolette Strahlen sind ohne schädigende Wirkung. In saurer Lösung haben auch

²¹⁾ Zit. C., 1930, I, 1641.

²²⁾ Dies gilt nach Kinnersley und Peters (Biochem. J., **22**, 419, 1928) nur für verschiedene Ausgangsmaterialien, während das gereinigte und konzentrierte Vitamin B₁ in absolutem Alkohol sehr gut löslich ist, in einem Fall 3 Jahre lang unverändert blieb in 99 %igem Alkohol bei pH₂. Die mehrfach behauptete Löslichkeit in Benzin beruhte in dessen Alkoholgehalt, während ganz reines Benzin das Vitamin nicht löst.

²³⁾ Emmett und Luros (J. biol. chem., **43**, 265, 1920).

²⁴⁾ Scheunert, eigene Versuche.

Wasserstoffsuperoxyd, Kaliumpermanganat und Reduktionsmittel wie H₂S, Behandlung mit Zinn und Zink, keine Zerstörung des antineuritischen Vitamins zur Folge (Kinnersley und Peters). Diese Autoren haben auch ein Verfahren ausgearbeitet, um das Vitamin B₁ vom andern Faktor zu trennen. Man hat dadurch die Möglichkeit, Substanzen, die kein B₁ enthalten, im Rattenversuch auf B₂ zu untersuchen, indem man mit einem solchen Extrakt genügend B₁ zuführt, um das Wachstum, das bei Mangel an B₁ ebenfalls zum Stillstand kommt, nur von dem Gehalt an B₂ abhängig zu machen.

Der antidermatitische oder Antipellagra-Faktor B₂ ist gegen Hitze noch stabiler. Fünfstündiges Erhitzen im Autoklaveu bei 120° zerstört ihn nicht. Da dabei aber öfters toxische Produkte entstehen, die den Versuch natürlich komplizieren, empfehlen Chick und Roscoe die Extraktion mit verdünnter kochender Essigsäure. Diese Autoren fanden auch,²⁵⁾ dass der Faktor B₂ nicht so beständig ist gegen das Erhitzen in alkalischer Lösung, wie es früher angenommen wurde, sondern dass er in einer Lösung von pH 10.3-9.6 vollkommen zerstört wird, während er in weniger alkalischen Lösungen wenigstens zum Teil erhalten bleibt.²⁶⁾ Emmett und Luros²⁷⁾, Hogan und Hunter²⁸⁾ fanden, dass B₂ durch ultraviolettes Licht (sie bestrahlten zehn Stunden lang) zerstört wird. Eigene Versuche zeigten, dass eine kurze Bestrahlung (Vitalinprodukte) ohne Einfluss war. B₂ wird leichter adsorbiert, auch an Niederschlägen, z. B. mit Bleiazetat, und ist weniger alkohollöslich als B₁.

Von der Verbreitung des Vitamin B₁ in Getreideprodukten gibt folgende kleine Tabelle nach Plimmer und Mitarbeitern ein gutes Bild.²⁹⁾ Es wurde dabei die Trockenhefe als das reichste Präparat als 100 gesetzt:

Trockenhefe . . .	100	Reis . . .	9	Kleie . . .	12—13
Presshefe . . .	33—40	Gerste . . .	7—8	Mais . . .	7—8
Weizenkeimling .	66	Hafer . . .	4—5	Hirse . . .	8
Ganzer Weizen . .	8—10	Hafermehl .	4	Dari . . .	8
Buchweizen . . .	5—6	Maiskeimmehl enthielt nur Spuren.			

Der Weizenkeimling enthält nach Chick und Roscoe³⁰⁾ sehr reichlich B₁, aber sehr wenig B₂, während die Kleie ziemlich mehr B₂ enthält. Da der Vitamin B-Gehalt der Getreideprodukte in Kleie und Keimling sitzt, nimmt er mit Zunahme des Kleieentzuges ab. Während Vollkornmehle und -Brote den ganzen Vitamingehalt des Getreidekornes enthalten und eine

²⁵⁾ Biochem. J., **24**, 932, 1930.

²⁶⁾ Chick und Roscoe, a. a. O., Daniels und McClurg, J. biol. chem., **37**, 201, 1919. Diese Autoren beziehen ihre Untersuchungen auf den antineuritischen Faktor. Da sie die Untersuchungen aber an Ratten durchführten, müssen sie nach den heutigen Kenntnissen auf B₂ bezogen werden.

²⁷⁾ J. biol. chem., **43**, 265, 1920.

²⁸⁾ Proc. Am. Soc. Biol. Chem., 1928, S. XVII, in J. biol. chem., Bd. 78.

²⁹⁾ Biochem. J., **21**, II, 1141, 1927.

³⁰⁾ Biochem. J., **21**, 708, 1927.

durchaus beachtliche Vitamin B-Quelle darstellen, enthalten Mehle und Brote *unter* 82 % Ausmahlung nach Scheunert³¹⁾ nur sehr wenig Vitamin.

Im Obst ist im allgemeinen kaum B vorhanden, Scheunert fand nur in Brombeeren und Holunderbeeren einen guten B₂-Gehalt. Am meisten enthält Grünkohl, dann kommen noch in Betracht Weisskohl, Mangold, Rotkraut, Erbsen, Karotten, Sellerie, Tomate, schwankend ist der Gehalt von Spinat und Kartoffeln. Es möge nochmals darauf hingewiesen werden, dass das Vitamin B wasserlöslich ist und beim Kochen ins Kochwasser übergeht, worauf schon Daniels und Mc Clurg (a. a. O.) hinwiesen. Beim Weggiessen des Kochwassers gehen also nicht nur Mineralstoffe, sondern auch Vitamine verloren.

Der Nachweis der B-Vitamine.

B₁, der antineuritische Faktor, wird meist an Vögeln, hauptsächlich Tauben untersucht. Tauben im Gewicht von 250—350 g werden in Einzelkäfigen an die Gefangenschaft und die Versuchsanordnung gewöhnt unter ständiger Gewichts- und Temperaturkontrolle. Zeigt sich ein stetiger Gewichtsanstieg und konstante Temperatur, wird das gemischte Körnerfutter durch polierten und gründlich gewaschenen Reis ersetzt. Negative Kontrollen erhalten nur diesen letztern. Sie zeigen nach ca. 8 Tagen einen Widerwillen gegen diese Nahrung. Von da ab muss der Reis gestopft werden und zwar in 2 Dosen täglich von je ca. 10 g, abwechslungsweise mit ausgeglühtem Meersand und Wasser. Die Tiere zeigen in 20—25 Tagen die akuten Beriberisymptome. Das Gewicht nimmt ständig ab, kann aber vor Ausbruch der Krämpfe wieder ansteigen, meist durch eine Füllung des Kropfes bedingt, die Temperatur sinkt ebenfalls allmählich, kurz vor Ausbruch der Krämpfe ganz schroff. Sie ist ein besseres Mass für die Krankheit, als die Gewichtskurve. Nicht alle Tauben lassen den gestopften Reis im Kropf, teilweise spucken sie ihn wieder aus. Dann tritt die Erkrankung wesentlich später ein und verläuft weniger akut, ist aber auch schlechter heilbar, da der Hunger den Stoffwechsel weitgehend beeinflusst hat. Mit guten B₁-Quellen (Hefe, Keimlinge) lassen sich die Tauben in 24 Stunden wieder herstellen.

Die zu untersuchende Substanz geben wir von Anfang an zu und zwar nach dem von Scheunert und Schieblich vorgeschlagenen Verfahren, wobei anfangs durch Tasten während längerer Perioden die Grenzdosis gesucht und nachher einige Wochen lang gereicht wird. Der Versuch dauert meist ca. 3 Monate. Diese Tiere verlieren selten den Appetit und es erübrigt sich meist ein Stopfen des Reises, wie eigene Parallelversuche mit und ohne Stopfen des Reises zeigten. Die Versuchssubstanz hingegen muss immer gestopft werden, da die Tiere das Futter leicht zerstreuen. Als positive Kontrolle und als Standard empfiehlt sich eine gute Trockenbierhefe.

³¹⁾ Der Vitamingehalt der deutschen Nahrungsmittel, 2. Teil, Mehl und Brot, Springer, 1930.

Für wissenschaftliche Versuche empfiehlt es sich, auch ein synthetisches Futter zu geben, wie es z. B. Kon und Drummond (a. a. O.) angeben und eventuell an anderen Tierarten eine Kontrolluntersuchung durchzuführen. Die oben beschriebene Versuchsanordnung hat uns aber befriedigende Resultate gegeben.

Ueber den Nachweis von B₂ an Ratten kann ich mich kurz fassen, da er ganz ähnlich erfolgt, wie derjenige von A. Das Grundfutter ist auch ganz ähnlich zusammengesetzt und muss natürlich vollkommen B-frei sein (Extraktion mit Wasser oder verdünntem Alkohol). Die Trockenhefe wird durch Lebertran als Quelle von Vitamin A und D ersetzt. Es ist dabei daran zu denken, dass Lebertran gelegentlich auf Ratten toxisch wirken kann (s. unter Vitamin D). Positive Kontrollen mit einer guten B₂-Quelle (Hefe) sind daher unbedingt erforderlich und zwar am besten in verschiedenen Konzentrationen, wo eine eventuelle toxische Wirkung leicht zu erkennen ist. Das Grundfutter ist folgendermassen zusammengesetzt:

Casein	20 0/0
Palmin	7 0/0
Lebertran	8 0/0
Stärke	60 0/0
Salzgemisch	5 0/0

Da die Tiere nur geringe B₂-Reserven haben, nehmen sie teilweise sofort, zum mindesten aber nach ca. 10 Tagen ab und weisen nach ca. 14 Tagen ein struppiges glanzloses Fell auf, haben geringen Appetit und sind bewegungsunlustig. Dann erfolgt die Zufütterung der zu untersuchenden Substanz.

Die Tiere müssen bei diesen Versuchen auf Böden sitzen, die ein Durchfallen des Kotes gestatten³²⁾. Wir verwenden gestanztes Aluminiumblech, auf dem die Ratten gut sitzen können. Durch Kotfressen können nämlich Ratten vollkommen normales Wachstum erlangen. Nach Untersuchungen von Fridericia, der diese Erscheinung als Refection bezeichnete, wird dies vermutlich durch vitamin-B-produzierende Mikroorganismen hervorgerufen, die aber, nach Untersuchungen von Schieblich und Rodenkirchen³³⁾, bisher nicht gezüchtet werden konnten. Hingegen konnte Schieblich die Bildung von Vitamin B im Pansen der Kühe durch verschiedene Bakterien einwandfrei nachweisen³⁴⁾.

Der Versuch muss ebenfalls über ca. 2—3 Monate fortgesetzt werden.

Das Vitamin C.

Die spezifische Wirkung des C-Vitamins ist die Verhütung und Heilung des Skorbutus. Während der Erwachsene, allerdings nur für kurze Zeit, ohne

³²⁾ Scheunert, Schieblich und Rodenkirchen, *Biochem. Z.*, **213**, 226, 1929.

³³⁾ *Biochem. Z.*, **213**, 234 und 245, 1929.

³⁴⁾ *Biochem. Z.*, **207**, 458, 1929; **233**, 371, 1931.

das Vitamin C auskommt, ist es für den wachsenden Organismus dringend erforderlich. Der Skorbut äussert sich in Blutungen des Zahnfleisches, in die Gelenke, unter die Haut, Knochenschmerzen, teilweisen Abbau der Knochen, besonders der Kieferknochen, Zahnausfall. Stepp weist darauf hin, dass in Fällen, in denen das Auftreten skorbutischer Erscheinungen durch einen eben genügenden Vitamin C-Gehalt der Nahrung verhindert wurde, durch eine interkurrente Erkrankung (Grippe, Diphtherie, Tuberkulose, Dysenterie etc.) plötzlich das volle Krankheitsbild ausbrechen kann. Andererseits bedingt Vitamin C-Mangel ebenso, wie das bei den anderen Vitaminen beschrieben wurde, eine grössere Anfälligkeit für diese Erkrankungen. Da das Vitamin C sehr leicht zerstört wird durch Kochen, Konservieren, Lagern, Trocknen, besteht besonders im Winter die Gefahr einer zu geringen Zufuhr, und Brauer führt die Frühjahrsmüdigkeit auf einen solchen Mangel zurück. Doch dürften dabei auch Umwelt-Einflüsse eine gewisse Rolle spielen.

Das Vitamin C ist in kleinen Mengen weit verbreitet in der Natur. Reich an Vitamin C sind aber nur frische, saftige, pflanzliche Produkte. Es scheint für das Leben der Pflanze eine grosse Rolle zu spielen. Es entsteht in reichlicher Menge beim Keimen der Samen, während es in den ruhenden Samen fehlt. Nach Kucera³⁵⁾ ist das C sofort überall im Spross enthalten, während B im Samen bleibt. Reich sind: Zitronen aus den Mittelmeergegenden (*Citrus lemona*), während die westindische Zitrone viel ärmer daran ist, Orangen (aber auch hier scheinen nicht alle Sorten gleichwertig zu sein), Tomaten, die grünen Gemüse und Salate, Kartoffeln, Rüben, Zwiebeln, Radieschen. Auch einige Obstsorten: Gute Speiseäpfel (schlechtere Aepfel scheinen wenig zu enthalten), Johannisbeeren, Stachelbeeren, Hohlunderbeeren, Erdbeeren, Himbeeren sind erwähnenswerte Vitamin C-Quellen. Aber auch hier zeigen sich Unterschiede zwischen den einzelnen Sorten und Ernten. Zahlreiche Obstsorten sind schlechte Vitamin C-Quellen. So Birnen, Pflaumen, Pfirsich, Aprikosen, Heidelbeeren, Trauben³⁶⁾. In tierischen Organen ist es hauptsächlich in der Leber enthalten, in geringer Menge auch in Muskeln und Nieren. Es wird meist aus der Pflanzenwelt stammen, kann aber wahrscheinlich auch von einzelnen Tierarten synthetisiert werden, so von der Ratte, dem Präriehund, den Vögeln.

Das Vitamin C ist das empfindlichste Vitamin und wird sehr leicht durch Oxydationen zerstört. Nach den Untersuchungen von Zilva³⁷⁾ ist aber das Vitamin C selbst nicht so empfindlich gegen Oxydationen, sondern eine reduzierende Begleitsubstanz, die durch Phenolindophenol oxydiert werden kann, ohne dass das Vitamin C dabei zerstört wird. Es ist dann aber nicht mehr haltbar, sondern verliert sehr rasch seine Wirksamkeit. Dasselbe geschieht,

³⁵⁾ Cit. nach Chem. Zbl., 1929, I, 1705.

³⁶⁾ Scheunert, Der Vitamingehalt der deutschen Nahrungsmittel, I. Teil, Obst und Gemüse, 2. Aufl., 1930, Springer.

³⁷⁾ Biochem. J., 21, 689, 1927.

wenn es durch chemische und physikalische Verfahren von den Begleitsubstanzen befreit wird. Daher gelang seine Isolierung noch nicht. Eine Bestimmung des Vitamins C auf chemischem Wege unter Benützung der reduzierenden Eigenschaften der Begleitsubstanz ist aber nicht möglich, da diese nicht spezifisch genug ist. Zilva fand auch, dass Zitronensaft in neutralem oder saurem Medium in sauerstofffreier Atmosphäre das Erhitzen während einer Stunde im Autoklaven bei einer Atmosphäre Ueberdruck ohne wesentliche Verminderung seiner Wirksamkeit aushielt, dass es aber nachher rascher die Wirksamkeit verlor, als im unerhitzten Zustand. Gleichzeitig verschwand aber auch die reduzierende Wirksamkeit der Begleitsubstanz. In weiteren Untersuchungen³⁸⁾ fand er, dass eher eine Substanz entsteht, die die Zerstörung des Vitamins einleitet, als dass ein thermolabiler Schutzstoff vernichtet würde. Er denkt an einen chinon-artigen Körper. Er zieht aus seinen Versuchen den Schluss, dass in den verschiedenen Naturprodukten mehr oder weniger reichlich stabilisierende Faktoren vorhanden seien, und dass bei der Zerstörung der Zellen eine Kette von Reaktionen eingeleitet werde, die zu einer mehr oder weniger raschen Zerstörung des Vitamins führt. Das stimmt gut überein mit den Ergebnissen von Scheunert und andern Forschern, die fanden, dass schon das Pressen zur Gewinnung des Saftes fast durchweg eine starke Verminderung, oft einen Verlust der C-Wirkung zur Folge hat. Die meisten handelsüblichen Obstfruchtsäfte besitzen nach diesen Autoren keinen nachweisbaren C-Gehalt. Auch bei der Zitrone ist der Saft weniger wirksam, als die frische Frucht³⁹⁾. Bei Orangen und Tomaten bleibt die Wirksamkeit am besten erhalten. Die verschiedenen Nahrungsmittel sind auch ganz verschieden empfindlich gegen das Erhitzen. So sind Weisskohl, weisse Rüben, Kohlrabi, Tomaten relativ unempfindlich, Karotten, Spinat, Löwenzahn, Spargel dagegen sehr empfindlich gegen das haushaltsübliche Kochen. Das gleiche gilt für die Konserven, die am ehesten C enthalten, wenn die Produkte in den Büchsen unter Luftabschluss und vermindertem Druck, kurzer Erhitzung unter 100° und ohne Kupferzusatz sterilisiert werden. Denn Hess und Weinstock⁴⁰⁾ stellten fest, dass Kupfer schon in minimalsten Mengen das Vitamin C zerstört, jedenfalls katalytisch. Auch andere Konservierungsmittel zerstören die C-Wirkung, so nach Williams und Corran⁴¹⁾: Kaliumbisulfit, Natriumbenzoat, Ameisensäure, Nelkenöl, während Zucker, hauptsächlich Traubenzucker, zu schonen scheint. Ebenso stabilisierend soll der Zucker bei der Kondensierung, resp. Trocknung der Milch wirken nach Untersuchungen von Hottinger⁴²⁾ an der schweizerischen Trockenmilch Guigoz. Er fand, dass diese der Basler Durchschnittsfrischmilch gleich-

³⁸⁾ Biochem. J., **23**, 1199, 1929.

³⁹⁾ Vergl. die Untersuchungen von v. Hahn, Z. U. N. G., 1930, I, S. 4, an Orangeaden und Zitronaden.

⁴⁰⁾ J. Industr. Chem., **13**, 1115, 1921; J. am. med. ass., **82**, 952, 1924.

⁴¹⁾ Biochem. J., **24**, 37, 1930.

⁴²⁾ Klin. Wochenschr., 1927, S. 1793.

wertig war, während eine von der gleichen Firma nach gleichem Verfahren ohne Zuckerzusatz hergestellte Trockenmilch kein C mehr enthielt. Ob der von ihm festgestellte negative Befund bei gezuckerter, kondensierter Milch anderer Herkunft auf längerer Lagerung, oder auf dem andern Herstellungsverfahren beruhte, hat er nicht weiter untersucht. Er fand nur, dass die Trockenmilch Guigoz mit der Lagerung an C-Wirkung verlor, dass aber die von der Firma in den Handel gebrachte bestrahlte Trockenmilch Ravix den gleichen C-Gehalt aufwies, wie die unbestrahlte, dass also Ultraviolettbestrahlung das Vitamin C nicht zerstört. Dasselbe hatte Zilva gefunden⁴³⁾, der sogar bei 8-stündiger Bestrahlung keine Verminderung fand. Die Trocknung zerstört das Vitamin C umso mehr, je länger und je höher dabei erhitzt wird. Nach den Untersuchungen zahlreicher Autoren soll das Just-Hatmakersche Verfahren (Trocknung in einigen Sekunden bei 116°) das Vitamin C nur wenig beeinflussen.

Kurze Erhitzung ist viel weniger schädlich, als länger dauernde. So ist das kurze Aufkochen der Milch ohne wesentlichen Einfluss, während das Pasteurisieren den Vitamin-C-Gehalt der Milch zerstört. Ebenso schädigend wirkt natürlich die Kochkiste, teilweise auch der Drucktopf⁴⁴⁾.

Die Lagerung hat meistens eine Abnahme des Vitamin-C-Gehaltes zur Folge. Doch kommt es auch hier wieder sehr auf Material und Behandlung an. Besonders tiefe Temperaturen wirken stabilisierend. So gelingt es nach Delf⁴⁵⁾ und nach van Leersum⁴⁶⁾ durch sachgemässes Aufbewahren von Früchten im Kühlraum bei 1—5,4° und durch Haltung von Fruchtsäften in gefrorenem Zustand unter Luftabschluss bei —11—14°, deren antiskorbischen Wert unverändert zu erhalten. Scheunert⁴⁷⁾ machte seine Untersuchungen an einem Material, das, in zerkleinertem Zustand, unter Luftabschluss, im Kühlraum bei —8° aufbewahrt wurde. Kartoffeln zeigen auch beim gewöhnlichen Lagern bis weit ins Frühjahr hinein (Juni) keine nennenswerte Abnahme der C-Wirkung in rohem Zustand, doch scheint, wenigstens teilweise, nach und nach eine grössere Empfindlichkeit gegen das Kochen einzutreten (Scheunert).

Dass die Reaktion des Milieus dabei auch eine grosse Rolle spielt, zeigen die Versuche von Williams und Corran, die in einer mit HCl auf pH 1,6 gebrachten Lösung das Vitamin C nach 14 Monaten unvermindert fanden.

Die Gewinnung und Lagerung von Gras und Heu spielt eine grosse Rolle für den Vitamin C-Gehalt der Milch. Dabei zeigte sich das Silagefutter sogar dem Grünfutter überlegen.

⁴³⁾ Biochem. J., **13**, 164, 1919.

⁴⁴⁾ Scheunert u. Wagner, zit. nach Chem. Zbl., 1929, I, 2072; 1930, II, 2195.

⁴⁵⁾ Zit. nach Schieblich, Die Vitamine.

⁴⁶⁾ Zit. nach Chem. Zbl., 1930, II, 3434.

⁴⁷⁾ Der Vitamingehalt etc., Obst und Gemüse.

Um nochmals kurz zusammenzufassen: Das Vitamin C ist ausserordentlich *empfindlich gegen Oxydation*, sei es durch *Luftsauerstoff* beim Lagern oder Erhitzen, sei es durch *Oxydationsmittel*, die eventuell in der Substanz entstehen bei der Behandlung, oder bei der Zerstörung der kolloidalen Struktur der Zelle (Pressen, Kochen) mit dem Vitamin C in Berührung kommen, sei es durch *katalytisch wirkende Substanzen (Cu)*, die zur Konservierung zugesetzt werden, oder eventuell auch schon in der Zelle vorhanden sein können, sei es durch *Veränderung der Reaktion des Milieus* usw. Die Zerstörung einer *reduzierenden Begleitsubstanz* scheint der Vernichtung der Vitaminwirkung voranzugehen. Vielleicht handelt es sich dabei um ein reversibles Gleichgewicht, wobei die Entfernung der einen Substanz sukzessive die Vernichtung der andern zur Folge hat. Die Oxydation kann verlangsamt werden durch tiefe Temperaturen, durch hemmende Substanzen, z. B. Zucker (der bekanntlich auch die Oxydation z. B. von Sulfiten hemmt), und natürlich durch Sauerstoffabschluss.

Der Bedarf des Menschen an Vitamin C wird von Hess (New York)⁴⁸⁾ für den Säugling auf 5, nach anderen Autoren für den Erwachsenen⁴⁹⁾ auf 50 Meerschweincheneinheiten geschätzt. Da Milch z. B. in 50—100 cm³ genügend C enthält, um ein Meerschweinchen vor Skorbut zu schützen, kann sie für den Säugling eine genügende Quelle sein, für den Erwachsenen hingegen nicht.

Aus dem Gesagten ergibt sich, wie wichtig es ist, die Herstellungsweise, das Alter und die Lagerung der Produkte möglichst genau zu kennen, dass man nicht von einem Produkt auf ein anderes schliessen darf und dass eine Aenderung der Fabrikationsart eine neue Bestätigung der Untersuchung verlangt. Man sieht auch, dass bei verschiedenen Produkten *auch in ihrem natürlichen Zustand* der Vitamin C-Gehalt nicht einwandfrei nachgewiesen ist.

* * *

Ueber die Methodik der Vitamin C-Untersuchungen kann ich mich wohl kurz fassen, da wir die Methode eingeführt haben, die v. Hahn⁵⁰⁾ sehr genau beschrieben hat. Als Versuchstier kommt das Meerschweinchen in Betracht, da die Ratte kein Vitamin C braucht. (Wir sahen allerdings mehrfach Ratten an Erscheinungen eingehen, die klinisch und pathologisch-anatomisch ganz den Eindruck von Skorbut machten. Das waren aber immer Tiere, die ein ganz einseitiges Futter [z. B. nur Weissmehl oder Vitamin-B-freies Futter] bekommen hatten, bei denen vielleicht der ganze Stoffwechsel so gestört war, dass die Synthese des Vitamins C nicht mehr in ausreichendem Masse möglich war). Die Meerschweinchen sollten auch möglichst der eigenen Zucht entstammen, ca. 200 g schwer sein und müssen während einiger Zeit vollkommen

⁴⁸⁾ Zit. nach MacLeod, J. Am. Med. Ass., 88, 1947, 1927.

⁴⁹⁾ Zit. nach v. Hahn.

⁵⁰⁾ Z. U. N. G., 59. Bd., 1930, I, S. 4.

normal zugenommen haben, müssen sich an die neue Umgebung und an die Fütterungsmethodik gewöhnen. Als Grunddiät erhalten sie Hafer, Heu und Wasser. Es muss dabei beachtet werden, dass der Hafer nicht nass wird und zu keimen beginnt, da er sonst reichlich C entwickelt. Das wird dadurch verhütet, dass die Glaskäfige täglich gewaschen und mit neuem Zellstoff ausgekleidet werden. Hat sich das Tier in ca. 2 Wochen an all das gewöhnt, auch an die Hand der Fütterin, an das Wägen usw., dann kann der Versuch beginnen, d. h. eventuell zugefügter Orangensaft wird weggelassen. Die Tiere sollen das Versuchsfutter möglichst spontan fressen. Der Rest muss gestopft werden, Flüssigkeiten werden mit der Pipette gegeben. Die Tiere werden alle 2 Tage gewogen. Der Versuch muss mindestens 60 Tage durchgeführt werden. Die Dosis soll nicht zu stark verändert werden, denn, wenn einmal Skorbut ausgebrochen ist, braucht es wesentlich höhere Mengen, um ihn zu heilen, also um das Tier zu schützen. v. Hahn empfiehlt noch sog. «Schädigungskontrollen». Diese Tiere erhalten neben der höchsten Dosis der zu untersuchenden Substanz noch eine sicher vor Skorbut schützende Menge Orangensaft. Auch nach Untersuchungen von P. di Mattei⁵¹⁾ ist diesen Schädigungskontrollen ein grösserer Wert beizulegen, als dies gemeinhin geschieht. Für eine Untersuchung braucht es so mindestens 32 Tiere und je nach dem Versuchsobjekt meist eine volle bis eine halbe Arbeitskraft für ca. 80 Tage. Am Schluss muss eine ganz genaue Sektion gemacht werden, um die Diagnose Skorbut bei den Kontrollen oder ungenügend zugefütterten Tieren festzustellen oder den Schutz vor Skorbut zu konstatieren. Diese muss sich besonders eingehend auf die Brust- und Bauchhöhle, besonders den Magendarmkanal, erstrecken; dann muss mindestens eine hintere Extremität freipräpariert werden, wobei auf die Beschaffenheit der Muskulatur, der Knochen und Gelenke zu achten ist; weiter muss hauptsächlich die Beschaffenheit von Zahnfleisch, Zähnen und Kiefer beachtet werden. Magen- und Darminhalt, Galle und Harn werden chemisch auf Blutgehalt untersucht, der Harn ebenfalls auf Eiweiss. Auf Grund von Gewichtskurve und Sektionsprotokoll erfolgt die Beurteilung. Es muss unbedingt gefordert werden, dass die gleiche Fütterin den Versuch von Anfang bis zu Ende durchführt, da nur dann eine Konstanz zu erwarten ist, wenn die Tiere sich nicht immer wieder umgewöhnen müssen. Sichere Versuchsergebnisse wird man dabei nur bei den Stoffen erwarten können, die für Meerschweinchen physiologisch sind, also kaum bei Fleisch und Fleischpräparaten. Da kämen wohl eher Hunde in Betracht.

Das Vitamin D.

Das Vitamin D ist wohl dasjenige Vitamin, das in den letzten Jahren am meisten von sich reden machte und dessen Entdeckung einen ganz bedeutenden Fortschritt der Therapie ermöglichte. Das Zusammenarbeiten

⁵¹⁾ Zit. n. C., 1929, I, 102.

von Klinikern, Chemikern, Physikern, Biochemikern hat sich hier glänzend bewährt. Es ist bekanntlich das antirachitische Vitamin und greift besonders in den Kalk- und Phosphorstoffwechsel ein. Es muss aber von vornherein betont werden, dass weder die menschliche, noch die experimentelle und spontane Tierrachitis in Prophylaxe und Therapie allein vom Vitamin D abhängt und bei der Beurteilung klinischer wie experimenteller Erfolge grösste Vorsicht geboten ist. Denn auch bei der menschlichen Rachitis spielen Umwelt, Vererbung und Ernährung eine sehr grosse Rolle und dies gilt noch vielmehr für die experimentelle Rachitis. Verschiedene Tierarten, so besonders die Ratte, werden nur rachitisch, wenn das Futter alle notwendigen Stoffe, wie vollkommenes Eiweiss, eine richtige Mineralstoffmischung, Vitamin A und B enthält, relativ fettarm ist, die Tiere dabei gut wachsen, wenig Bewegung und wenig Licht haben. Sonst treten andere Knochenerkrankungen auf, die mit Rachitis klinisch verwechselt werden können, aber histologisch ein anderes Bild bieten. In Bezug auf die Mineralzusammensetzung der Kost werden Ratten nur bei einem Ueberschuss von Calcium oder von Phosphor rachitisch. Während das Optimum für die Ratte bei ca. 0,6 % Calcium und 0,42 % Phosphor liegt, enthalten die gebräuchlichen Grundfutter nur 0,3019 % P und 1,22 % Ca.

Weiterhin ist nicht jede Kalkarmut der Knochen mit Rachitis identisch. So habe ich bei der Besprechung des Skorbuts die Osteoporose erwähnt, die leicht mit Rachitis verwechselt werden kann, wenn nicht Blutuntersuchungen und histologische Kontrollen gemacht werden. Bei Stoffwechselstörungen, die zu einer Acidosis führen, können ebenfalls rachitisähnliche Bilder entstehen, ebenso bei Nierenerkrankungen. Experimentell kann man durch Ersatz des Calciums durch Strontium und durch Thalliumvergiftung Rachitis erzeugen, die aber durch Vitamin D in keiner Weise beeinflusst wird. Dass das Vitamin D auch in anderer Hinsicht in den Stoffwechsel eingreifen kann, möge nebenbei erwähnt werden, indem die Legefähigkeit von Hennen, die Bebrütbarkeit der Eier und die Dicke der Kalkschale durch das Vitamin D wesentlich beeinflusst werden. (Hart, Steenbock und Mitarbeiter, Hughes, Payne, Titus, Moore u. a.).

Reichliche einseitige Kohlehydratzufuhr in Form von Mehlen, Schleimen usw. scheint die Rachitis zu begünstigen, ebenso Störungen in der Fettverdauung, die mit einem Verlust von Kalkseifen einhergehen, während z. B. Vegetabilien die Kalkretention begünstigen.

Die *Konstitution des Vitamin D* kennen wir noch nicht. Wir wissen nur durch die berühmten Untersuchungen von Windaus und Pohl, deren Präparate Holtz in Göttingen, Hess in New York, Rosenheim in London untersuchten, dass das Ergosterin in das D-Vitamin umgewandelt werden kann durch die Einwirkung von Strahlen bestimmter Wellenlänge.

Nach Untersuchungen von v. Wijk und Reerink ist das längerwellige Ultraviolett von 330 bis etwa 282 $m\mu$ (Benzolfilter) hauptsächlich für die

Aktivierung zum Vitamin D wichtig, während die kürzeren Wellen eine rasche Umwandlung des Vitamins unter Vermehrung der toxischen Komponente bedingen.⁵²⁾ Ueber ähnliche Ergebnisse berichteten E. Kisch und T. Reiter⁵³⁾, die in umfangreichen Versuchen zeigen konnten, dass nach Entfernung der Strahlen unter 280 m μ das Vitamin D nicht mehr so rasch zerstört und vor allem kein toxisches Produkt mehr erhalten wurde. Während bei Bestrahlung mit dem ganzen Quecksilberdampfspektrum 200 γ Ergosterin schwere toxische Erscheinungen erzeugten, zeigte das mit gefiltertem Licht bestrahlte Produkt, das die gleiche antirachitische Wirksamkeit aufwies (0,1—0,2 γ Ergosterin war die Grenzdosis) auch bei 2 mg Ergosterin gar keine toxische Wirksamkeit. Es gibt also nach diesen Befunden keine D-Hypervitaminose und man wird von der Industrie erwarten dürfen, dass sie diese Erfahrungen in die Praxis umsetzt. Dann können auch bestrahlte Ergosterinprodukte, wie Vigantol, wieder freigegeben werden, da keine Gefahr der Ueberdosierung besteht.*)

Schon früher wiesen Bills, Honeywell und Cox⁵⁴⁾ darauf hin, dass bei maximalster Wirksamkeit des untersuchten Ergosterins nach 22 $\frac{1}{2}$ Minuten dauernder Bestrahlung das Spektrum kaum verändert und mindestens 73% des Ergosterins unverändert war. Erst bei länger dauernder Bestrahlung veränderte sich das Spektrum, aber gleichzeitig nahm die antirachitische Wirksamkeit ab, die 250 000 mal so stark gewesen war, wie die eines Durchschnittslebertrans. Nach Untersuchungen der oben genannten holländischen Forscher zusammen mit Mörikofer in Davos ergab sich das interessante Resultat, dass bei der Sonnenstrahlung das Verhältnis von Vitaminzerstörung zur Vitaminbildung mindestens dreimal grösser ist, als bei der Quecksilberdampflampe.

E. Shelow und J. R. Loofbourow⁵⁵⁾ zeigten auch eine Aktivierbarkeit mit sehr weichen Röntgenstrahlen in dem Gebiet, wo das Ergosterin eine Absorption zeigt, während harte Röntgenstrahlen das Vitamin zerstören. F. Lang und J. v. Ries⁵⁶⁾ konnten durch Rotbestrahlung Vigantol inaktivieren, durch Ultraviolett wieder aktivieren. Chemisch ist das Ergosterin dem Cholesterin nahe verwandt und weist 3 Doppelbindungen auf. Es ist im menschlichen Organismus ziemlich weit verbreitet und kann besonders in der Haut durch Bestrahlung aktiviert werden. In der Natur ist es in Pilzen (Mutterkorn) und besonders auch in der Hefe reichlich vorhanden. Nur in wenigen Nahrungsmitteln ist es in aktiviertem Zustand, also als

⁵²⁾ Vergl. Strahlentherapie, **39**, H. 1, 1930; Biochem. J., **23**, 1294, 1929.

⁵³⁾ D. med. W., 1930, S. 2034.

⁵⁴⁾ J. biol. chem., **80**, 557, 1928.

⁵⁵⁾ Bull. Basic. Science Res., Vol. 3, Serie IV, Nr. 1, S. 39, 1931.

⁵⁶⁾ Schw. med. W., 1931, S. 324.

*) Anmerkung bei der Korrektur: Nach Laquer [Klin. Wochenschr. 1931, Nr. 23 S. 1072] sind diese Berichte mit Vorsicht aufzunehmen und eine weitere Bestätigung abzuwarten.

Vitamin D in nennenswerter Menge zu finden. So in verschiedenen essbaren Pilzen, wie Pfifferlinge, Steinpilze, Maronenröhring, Wiesenchampignons (während es in den im Keller gewachsenen Champignons nach mündlicher Mitteilung von Prof. Scheunert fehlt), weiter ist es enthalten im Eigelb, aber abhängig von der Haltung der Hühner, weniger von deren Futter. Nur wenn Hühner genügend Auslauf haben, enthält das Eigelb reichlich Vitamin D, sodass schon ein Tropfen täglich genügt, um Ratten vor Rachitis zu schützen.

Nach Untersuchungen von Bethke, Kennard und Sassaman⁵⁷⁾ konnte Eigelb von Hennen, die im Stall gehalten wurden, in Dosen von 7 g pro kg Grundfutter Ratten nicht vor Rachitis schützen. Wurde den Hennen Lebertran gegeben, dann genügten 5 g, liess man sie auslaufen, reichten 2 g Eigelb aus. Steenbock und Mitarbeiter fanden, dass durch Bestrahlung der Hennen der Vitamin D-Gehalt um ungefähr das 10fache stieg, ohne dass der Calcium- und Phosphorgehalt des Eigelbs sich veränderte. Auch aschenfreie Extrakte waren wirksam. Bei andern natürlichen Nahrungsmitteln ist der Gehalt noch stärkeren Schwankungen unterworfen. So enthält die Kuhmilch oft Vitamin D, besonders wenn die Kühe im Freien weiden können. Der Vitamin D-Gehalt scheint aber von verschiedenen Faktoren abhängig zu sein, so vom Futter, von der Haltung der Tiere, von der Sonnenstrahlung. Verfütterung von Lebertran und von öligen D-Vitaminlösungen⁵⁸⁾ führten meist nicht zu einer Anreicherung der Milch an Vitamin D. Auch die Bestrahlung der Kühe ist nicht immer wirksam. Hingegen soll bestrahlte Hefe den Vitamin D-Gehalt von Muttermilch und von Kuhmilch wesentlich steigern können.⁵⁹⁾

Damit sind wir aber auch schon zur Frage der *Bestrahlung von Nahrungsmitteln* gekommen, die hauptsächlich von dem amerikanischen Kinderarzt Hess und von Steenbock ausgebaut wurde. Steenbock liess sich sogar die Bestrahlung von Nahrungsmitteln patentieren. Zahlreiche Nahrungsmittel enthalten Ergosterin. Da zur Verhütung und Heilung der Rachitis nur einige γ (oder vielleicht nur Bruchteile davon) von Vitamin D notwendig sind, kann die chemische Analyse noch nicht zu Hilfe gezogen werden. Die ersten Versuche wurden von Hess und von Steenbock neben der Bestrahlung von Oelen an Getreideprodukten (Weizen und Mais) gemacht⁶⁰⁾ und besonders die Keimlinge erwiesen sich als sehr stark aktivierbar. Steenbock bezieht sein Patent ganz besonders auf Mahlprodukte und weist auch in einer 1927 erschienenen Arbeit⁶¹⁾ auf die Wichtigkeit bestrahlter Getreide-

⁵⁷⁾ J. biol. chem., **72**, 695, 1927.

⁵⁸⁾ Vergl. Roemmele und Stöhr, zit. nach Chem. Zbl., 1930, II, 3433.

⁵⁹⁾ M. Wachtel, Münchn. med. Wochenschr., **76**, 1513, 1929.

⁶⁰⁾ Hess, J. biolog. chem., **63**, 297, 1925; Steenbock und Daniels: J. Americ. Med. Assoc., **84**, 1093, 1925, II.

⁶¹⁾ Indus. and Engin. Chem., **19**, 906.

produkte hin. Es ist daher unverständlich, wie Schwarz und Sieke vom Hamburger Hygienischen Institut generell die Bestrahlbarkeit von Mehl ablehnen, «da die Stärke kein Fett enthalte». ⁶²⁾ Allerdings enthalten die Schalenteile und besonders die Keimlinge den grösseren Teil der aktivierbaren Substanz, worauf besonders auch Mc Collum aufmerksam machte. Wir haben auch in unsern Versuchen über die Vitalinprodukte bei reinem Weissmehl und reinem Gries eine deutliche, aber sehr geringe Aktivierbarkeit gefunden.

Nach dem unten beschriebenen Line-test-Verfahren fanden wir bei Vergleich mit Vigantol im Gries ca. 3 klin. Einheiten in 100 g, im Baslerdurchschnittsmehl 15 klin. Einheiten, während die unbestrahlten Produkte keine nennenswerte Beeinflussung der Rachitis zeigten. Nach Mischung mit Schalenteilen zeigte das Gries ca. 30, das aus bestrahltem Mehl hergestellte Brot ca. 50 klin. Einheiten, so dass wir eine Herabsetzung des Vitamingehaltes des Brotmehles forderten, die dann auf ca. 5 klin. Einheiten reduziert wurde. Dadurch ist eine eventuelle toxische Wirkung ausgeschlossen. Aber auch hochbestrahltes Mehl zeigte an Ratten (wir füttern jetzt schon die 2. Generation nur mit diesen Mehlen und mit Milch) nicht die geringste toxische Wirksamkeit. Es ist allerdings zu sagen, dass die Produkte nur ausserordentlich kurz den Quarzlampen ausgesetzt werden. Sie laufen in dünner Schicht auf einem Band unter den Lampen durch und sind im Ganzen ca. 3 Sekunden den Strahlen ausgesetzt. Dadurch ist aber auch jede Bleichwirkung ausgeschlossen und das Vitamin B₂, das gegen ultraviolettes Licht empfindlich ist, wird nicht beeinflusst, wie Versuche zeigten. Die Wirksamkeit haben wir auch im Schutzversuch geprüft und immer das unbestrahlte Produkt mit demselben bestrahlten verglichen. Wie die oben erwähnten Bestrahlungsversuche mit filtrierte Licht zeigten, entsteht der toxische Faktor nicht immer in gleicher Menge, wenn auch verschiedene Forscher zu dem Ergebnis kamen, dass der antirachitische und der toxische Faktor meist parallel gehen und Holtz und Schreiber die Vermutung aussprachen, dass beide Gruppen eventuell am gleichen Molekül sitzen könnten. Aber jedenfalls ist der toxische Faktor viel widerstandsfähiger, als der antirachitische und es lässt sich so eine Trennung herbeiführen, die viel zur Klärung der sog. Hypervitaminosen beigetragen hat. Es sei nebenbei erwähnt, dass zur Erreichung einer toxischen Wirkung an der jungen Ratte 200 000 und mehr Schutzseinheiten, bei der Erwachsenen mindestens 10 000 notwendig sind ⁶³⁾. Empfindlicher sind die weisse Maus, Katzen und Kaninchen. Aber auch da braucht es enorme Dosen bestrahlten Ergosterins, um eine Arterienverkalkung, eine Verkalkung in Niere, Herz usw. zu erreichen. Ob der toxische Faktor auch in Lebensmitteln entsteht, ist noch nicht entschieden,

⁶²⁾ Münchn. med. Wochenschr., 1930, II, 1801.

⁶³⁾ Vergl. V. Demole, Schweiz. med. Wochenschr., 1931, S. 177 (dort auch weitere Lit.). Arch. int. Pharm. et Thér., 38, 535, 1930.

da eine so hohe Konzentrierung bisher nach der Bestrahlung nicht möglich war. Die sog. toxische Wirkung des Lebertrans muss auch mit Reserve aufgenommen werden, denn, wie Norris und Church⁶⁴⁾ nachgewiesen haben, beruht die toxische Wirkung weder auf einer A-, noch auf einer D-Hypervitaminose, sondern auf dem Gehalt an Stickstoffbasen, wie Cholin, Butylamin, Isoamylamin u. a., die in den gleichen Konzentrationen allein verfüttert die gleichen toxischen Wirkungen hervorrufen. Die Autoren konnten die toxische Wirkung durch Vermehrung der Hefe in der Grundkost aufheben. Miss Coward und ihre Mitarbeiter^{12a} erreichten dasselbe durch Verabreichung eines anderen Caseins. Harris und Moore⁶⁵⁾ berichteten, dass die Ratten weniger gut wuchsen, wenn sie 15 % Arachidöl durch die gleiche Menge Lebertran ersetzten und dass dabei das Fell der Ratten rauh wurde, wie bei Vitamin B-Mangel. In einer späteren Arbeit⁶⁶⁾ fanden sie, dass der Vitamin B-Bedarf mit der Vermehrung des Lebertrans stieg. Sie verwandten als B-Quelle Marmite und teilweise Weizenkeimextrakt. Light, Miller und Frey⁶⁷⁾ fanden, dass sie eine «Hypervitaminose» mit bestrahltem Ergosterin durch reichliche Hefegaben hemmen oder verhindern konnten. György⁶⁸⁾ berichtet über ähnliche Ergebnisse. Ebenso konnte Siegwart Hermann⁶⁹⁾ durch Kombucha, ein altes Volksheilmittel gegen Arteriosklerose, das nach seinen Untersuchungen eine Pilzgemeinschaft von Hefen und Bakterien darstellt, die toxische Wirksamkeit grosser Vigantolgaben verhindern oder heilen. Ob dies eine Vitaminwirkung oder die Wirkung einer andern Substanz (z. B. Glukonsäure) ist, lässt er offen. Trotzdem die Frage noch nicht genügend geklärt ist, scheint doch ein gewisses Gleichgewicht der Vitamine nötig. Da wir aber noch keine reinen Vitamine in Händen haben, muss man sehr vorsichtig sein. Denn durch Ueberschuss des einen Nahrungsbestandteiles können auch andere als Vitaminschäden auftreten und die günstige Wirksamkeit der Hefe muss nicht mit ihrem Vitamingehalt zusammenhängen. Aber immerhin ist es empfehlenswert, neben D auch genügend andere Vitamine zu geben.

Technik der D-Untersuchung.

Wie aus den vorliegenden Bemerkungen über die experimentelle Rachitis hervorgeht, ist die Untersuchung auf einen Vitamin D-Gehalt wohl der kürzeste Versuch, aber gleichzeitig einer der diffizilsten. Da das Vitamin D gespeichert werden kann, die Ratte umso stärker rachitisch wird, je besser sie wächst, je jünger sie ist, müssen bei keinem Vitamin-Versuch so grosse

⁶⁴⁾ J. biol. chem., **89**, 437, 1930.

⁶⁵⁾ Biochem. J., **22**, 1461, 1929.

⁶⁶⁾ Biochem. J., **23**, 1114, 1930.

⁶⁷⁾ J. biol. chem., **84**, 487, 1929.

⁶⁸⁾ Hb. der Physiol. XVI/2, S. 1609, 1931.

⁶⁹⁾ Klin. Wochenschr., 1929, II, S. 1752.

Anforderungen an die Zucht gestellt werden, wie hier. Gleichmässige Resultate können nur erwartet werden bei einer ausgeglichenen Zucht, bei optimaler Ernährung und Haltung der Tiere. Da ich schon bei dem Abschnitt über die Haltung der Zuchttiere darauf zu sprechen kam, will ich mich mit diesen Hinweisen begnügen. Die Tiere sollen im Alter von 4 Wochen mindestens 40 g schwer sein und auch im Versuch gut zunehmen, die Geschwister sollen nicht zu verschieden sein (ausgeglichene Zucht!), die Würfe sollten aus mindestens 6 Tieren bestehen.

Aber nicht nur an das Tiermaterial werden grosse Anforderungen gestellt, sondern auch an die Untersuchungstechnik. Da die verschiedensten Einflüsse die Ratten-Rachitis beeinträchtigen können, ist auf folgende Punkte besonders zu achten: Das Verhältnis von Ca/P des Grundfutters muss wie 4 : 1 oder 5 : 1 sein und darf durch die zu untersuchende Substanz nicht wesentlich verschoben werden. Eine Korrektur z. B. eines höheren P-Gehaltes durch Erhöhung des Calciums ist innerhalb gewisser Grenzen möglich, bedingt aber genaue Phosphat- und Calciumanalysen. Um im Vorversuch diesen Einfluss ausschalten zu können, kann zuerst einmal gleichzeitig neben dem zu untersuchenden Stoff auch dessen Asche untersucht werden. Es ist aber dabei daran zu denken, dass organische Phosphorverbindungen nicht immer wie anorganisches Phosphat wirken, sondern wie z. B. Casein, die rachitogene Wirkung eher verstärken können (das gilt nicht für Lezithin-, Hefe-, Fleischphosphor). Kontrollversuche, bei denen verlangt werden muss, dass die Tiere, die Ca- und P-reicheres Grundfutter bekommen, genau gleich rachitisch werden, wie die nur mit dem unveränderten Grundfutter behandelten, müssen parallel gehen. Ein weiterer Weg, durch Extraktion mit Lipidlösungsmitteln das Vitamin D oder seine Vorstufe, das Ergosterin zu isolieren und so nachzuweisen, ist noch nicht genügend quantitativ sicher ausgearbeitet. Wir beabsichtigen demnächst gemeinsam mit Holtz (Göttingen-Berlin) an dieses Problem heranzugehen, das sich gegenwärtig allen Forschern stellt, die das Vitophos der Cristallo A. G. in Thuisis untersuchen und uns besonders auch hinsichtlich der Vitalinprodukte interessiert. Dass eine solche Extraktion möglich ist, zeigen ältere Versuche von Hess und Weinstock und von Nelson und Steenbock. Man wird unter möglichstem Sauerstoffabschluss verseifen, im Unverseifbaren durch Digitonin das Cholesterin fällen und den Rest z. B. in Petroläther oder in einem Oel lösen. Dann muss der Tierversuch beweisen, dass das Vitamin erhalten blieb. Die Spektralanalyse kann dabei zu Hilfe gezogen werden, kann aber den Tierversuch nicht ersetzen. Solche Untersuchungen übersteigen den Rahmen rein biologischer Untersuchungsmethoden, reizen aber umso mehr den physiologischen Chemiker. Dass sie viel Zeit in Anspruch nehmen, ist wohl ohne weiteres verständlich. Ferner ist daran zu denken, dass eventuell die unbestrahlte Substanz oder die Asche einer zu untersuchenden Substanz die Rachitis der negativen Kontrollen scheinbar unbeeinflusst lassen, aber doch

die Heilungstendenz steigern kann, sodass ein geringerer Vitamingehalt genügt um zu schützen oder zu heilen, als bei der unveränderten Grundkost. Es bedingt dies weitere Kontrollen, bei denen zum Grundfutter und zum unbestrahlten Produkt z. B. ein Standardvitamin D zugegeben wird.

Man sieht, wie kompliziert eine Vitamin D-Untersuchung von Lebens- und von Heilmitteln sein kann und dass eventuell für die erste Untersuchung eines Produktes mehrere Versuchsreihen notwendig sind.

Dass die Tiere möglichst im dunkeln gehalten werden müssen, dass durch peinliche Sauberkeit Infektionen, Uebertragen von Vitamin D aus einem Käfig ins andere (Trinkgefäße) vermieden werden müssen, soll nur nebenbei erwähnt werden. Ursprünglich übernahmen wir von Hamburg die Heilmethode mittels des Line-test, machen aber schon seit mehreren Monaten auch den prophylaktischen Versuch, wie ihn Scheunert und Schieblich beschrieben haben. Ich gehe daher im folgenden auf beide Methoden ein, da wir glauben, dass beide ihre Vorteile haben und gelegentlich miteinander verglichen werden müssen.

Der Heilversuch ist in den Vereinigten Staaten und in England gegenwärtig noch vorherrschend. Untersuchungen an einem riesigen Tiermaterial, ich möchte nur auf die kürzlich erschienene Arbeit von Bills, Honeywell, Wirick und Nussmeier⁷⁰⁾ hinweisen, die die Protokolle von 10 000 Ratten bearbeiteten, haben einige interessante Ergebnisse gezeitigt. Geschlecht und Farbe, auch das absolute Gewicht beeinflusst das Ergebnis kaum. Sehr wichtig ist die absolute Nahrungsaufnahme, besonders wenn das Vitamin D in einem gewissen Verhältnis der Nahrung beigemischt wird. Die Autoren fanden, dass sowohl die Beimischung zur Nahrung, wie die isolierte Gabe in einer bestimmten täglichen Menge neben der Grundkost, nicht ganz das richtige trifft, indem einmal die Ratte umso mehr Vitamin braucht, je mehr sie frisst, andernteils aber das Verhältnis von Ca/P eher wichtiger ist, als die absolute Aufnahme. Es ist aber beides zu berücksichtigen. Da die Kurven von voll ausgebildeter Rachitis bis zu voller Heilung nicht geradlinig mit der Menge steigen, sondern asymptotisch verlaufen, wird keine vollständige, sondern nur eine teilweise Heilung verlangt. Es zeigte sich, dass eine Zufütterung während 5 Tagen am günstigsten ist, indem kürzere Dauer nicht empfindlich genug, längere zeitraubend und nicht wesentlich genauer ist. Immerhin braucht es zu einer Heilung in 10 Tagen 4,5 mal weniger Vitamin, als in 5 und in 14 Tagen 6,12 mal weniger. Aber es scheinen ziemlich konstante Verhältnisse zu bestehen. Andererseits ist im Heilversuch ungefähr die 10 fache Dosis nötig als im Schutzversuch. Da die Kurve der Zahl der geheilten oder geschützten Tiere bei 80 % asymptotisch wird, wird verlangt, dass bei der Standardisierung von je 10 Tieren 8 gleich geheilt oder geschützt sein sollen (das gilt auch z. B. für die Vitamin A-Versuche).

⁷⁰⁾ Journ. biol. chem., **90**, 619, 1931.

Nun die Methodik des Heilversuchs:

Junge wachsende Ratten im durchschnittlichen Gewicht von 35—40 g und einem Alter von ca. 4 Wochen werden in Einzelkäfigen auf Zellstoff oder Sägespänen 3 Wochen lang mit folgendem Grundfutter (von Steenbock Nr. 2965 modifiziertes Futter nach Mc Collum) gefüttert:

Gelber Mais (fein geschrotet) . . .	76
Weizenkleber (extrahiert)	20
CaCO ₃	3
NaCl	1

Erfahrungsgemäss werden die Ratten in dieser Zeit schwer rachitisch, was wir an zahlreichen Röntgenbildern ohne Ausnahme feststellen konnten. Der gelbe Mais enthält genügend Vitamin A und B, um während des Versuchs das Wachstum aufrecht zu erhalten, aber sein Phosphorgehalt ist je nach Herkunft und Ernte verschieden, sodass es sich empfiehlt, um vergleichbare Resultate zu bekommen, grössere Mengen auf einmal einzukaufen. Man muss ihn aber günstig lagern können, damit er nicht allzurasch « lebendig » wird. Mit dem Weizenkleber der Firma Blattmann (Wädenswil) haben wir sehr gute Erfahrungen gemacht.

Hierauf werden die Ratten, unter Beibehaltung des Grundfutters, 10 Tage mit den zu untersuchenden Stoffen zugefüttert, wobei Flüssigkeiten in Mengen von 0,1 ccm (Prof. Dale schlägt Mikropipetten vor, aus denen 0,02 ccm gegeben werden sollen) der Ratte eingegeben werden, wobei natürlich festgestellt sein muss, dass die betreffende Pipette auch diese Flüssigkeitsmenge unter den Versuchsbedingungen abgibt (wässrige, ölige Lösungen) und dass die Ratte alles schluckt. Es bedarf dazu einer vollkommen ruhigen Hand, an die sich die Tiere rasch gewöhnen (nicht jede Hilfskraft eignet sich dazu) und absolute Zuverlässigkeit ist unbedingte Voraussetzung. Feste Substanzen werden in Mengen von maximal 2 g den hungrigen Ratten hingestellt. Meist fressen sie das Material spontan, der Rest muss gestopft werden, eine sehr zeitraubende Arbeit. Kontrolltiere erhalten weiter nur Grundfutter (negative Kontrollen) oder ein standardisiertes Vitamin D-Präparat (positive Kontrollen). Wir verwandten bisher als Standardpräparat Vigantol, haben aber jetzt durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Dale das besser standardisierte Präparat des Medical Research Council übernommen. In den Versuchen mit Vigantol zeigte sich uns, dass 1 klinische Einheit pro die in 10 Tagen die Rachitis vollkommen, $\frac{1}{10}$ klin. E. fast heilte, $\frac{1}{100}$ klin. E. (gleich einer Rattenschutzdosis nach dem Vorschlag von Holtz) die Heilung merklich einleitete. Um die Produkte mit dem Standardpräparat vergleichen zu können, muss die Wirkung zwischen der von $\frac{1}{100}$ und $\frac{1}{10}$ klin. E. liegen. Trifft das nicht im ersten Versuch zu, dann muss ein zweiter angeschlossen werden. Das Befinden der Tiere muss während des Versuchs befriedigend sein, sie müssen weiter an Gewicht zunehmen, denn wie schon oben bemerkt, kann bei Hunger die Ra-

chitis spontan ausheilen. Am 11. Tage, vom Beginn der Zufütterung an gerechnet, werden die Tiere mit Aether getötet, hierauf die Vorderbeine präpariert, in Formalin gehärtet und die Vorderarmknochen in der Längsachse gespalten. Diese werden hierauf mit einer 2prozentigen Silbernitratlösung behandelt und dem Licht ausgesetzt. Die frisch verkalkten Stellen färben sich dabei schwarz durch Reduktion des Silbers, ohne dass dies für Phosphor oder Kalk spezifisch wäre⁷¹⁾. Aus der Intensität der Färbung der Epiphysengegend wird die Stärke der Heilwirkung bestimmt. Meist tritt zuerst ein mehr oder weniger dicker Streifen auf (Line), gelegentlich setzt aber die Verkalkung direkt an der Diaphyse an und erschwert dann die an sich nicht einfache Beurteilung sehr. Handelt es sich nicht um eine genaue Feststellung des Heilungsgrades, sondern nur um eine Uebersicht, dann kann das Röntgenbild die umständliche Technik ersetzen.

Der prophylaktische Versuch, wie ihn Scheunert und Schieblich nach dem Vorgange von Holtz genau beschrieben haben⁷²⁾, gestattet eine Bestimmung in 14 Tagen zu machen. Als Grundkost wird dabei das Futter 3143 von McCollum angewandt, bei dem Ratten in 14 Tagen rachitisch werden, jedenfalls dadurch, dass sie rascher wachsen bei diesem Futter, das mehr Vitamin B und mehr Lysin (Gelatine) enthält.

Weizenschrot (aus ganzem Weizen) .	33
Maismehl (aus ganzem gelbem Mais)	33
Weizenkleber (extrahiert)	15
Calciumkarbonat	3
Kochsalz	1

alles durch Mischen mit 15 % in Wasser gelöster Gelatine in ein schneidbares gel verwandelt und in Würfel geschnitten.

Das Wasser wird in Glaskugeln oder Glasstöpselflaschen besonderer Konstruktion gegeben, sodass die Ratten es nicht umwerfen können.

Gleichzeitig mit dem Grundfutter wird die zu untersuchende Substanz zugefüttert und nach 14 tägiger Fütterung im Röntgenbild der hinteren Extremitäten (Kniegelenk) der Grad des Schutzes bestimmt. Als Mass für die antirachitische Einheit wird diejenige Menge gewählt, die gerade genügt, um 80 % der Ratten vor Rachitis zu schützen. Für jede Dosis werden 10—11 Ratten eingesetzt, ebenso 10 negative Kontrollen, die alle am Schluss gleich rachitisch sein müssen. Die Standardisierung nach dem Schutzversuch verlangt also eine grosse Anzahl von Tieren und eine gute Verteilung der einzelnen Würfe, sodass sie möglichst auf jede Dosis verteilt sind und mindestens eines als negative Kontrolle läuft. Die Verabreichung der zu prüfenden Substanzen und die Haltung der Tiere ist gleich wie im Heilversuch. Die Beurteilung der Röntgenbilder verlangt viel Erfahrung. Die Anforderungen, die an das Tiermaterial gestellt werden, sind mindestens so

⁷¹⁾ Cameron, J. Path. and Bact., **33**, 929, 1930.

⁷²⁾ Biochem. Z., **209**, 290, 1929; **230**, 312, 1931.

hoch, wie im Heilversuch. Es empfiehlt sich, die Tiere zuerst einige Tage im Einzelkäfig unter den Versuchsbedingungen bei Normalkost zu halten und sie eventuell an die Pipette zu gewöhnen, damit nicht ein Stillstand im Wachstum eintritt unter den ungewöhnten Umweltbedingungen. Gerade diese Schutzversuche verlangen die peinlichste Einhaltung der Regeln für die Zucht und es ist vornehmlich dieser Faktor, der den Versuch wesentlich verteuert. Denn die Zucht muss gross genug sein, um im gleichen Zeitpunkt ca. 100 gleichwertige und gleichartige Junge liefern zu können.

Vitamin E.

Vitamin E, das Antisterilitätsvitamin, wurde von Evans und seinen Mitarbeitern sehr genau studiert⁷³⁾, sowohl in seinen biologischen, wie chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften. Sie konnten es auch kristallinisch darstellen. Ein Mangel an Vitamin E macht sich wohl nur bei synthetischer Nahrung bemerkbar, da es sehr weit verbreitet ist. Es zeigen sich zunächst keinerlei Störungen im Gesundheitszustand und im Wachstum der Tiere, es tritt aber, vielfach erst in der 2. Generation, bei beiden Geschlechtern Sterilität ein. Bei den Männchen tritt Azoospermie auf, während, wenigstens anfangs, das Geschlechtsgefühl erhalten bleibt, und erst verschwindet, wenn der Hoden irreparabel degeneriert ist. Es können auch weitere Veränderungen auftreten durch die Störung der inneren Sekretion, wie z. B. eine Veränderung des Haarkleides, das seifig wird, wie Verzár und v. Kokas⁷⁴⁾ feststellten.

Anders beim Weibchen. Hier bleiben Ovulation, Oestrus und Implantation des Eies unverändert (wenigstens in den früheren Stadien der Krankheit). Es wird aber höchstens die erste Schwangerschaft ausgetragen, die Jungen werden in vielen Fällen, trotz Vorhandenseins von Milch, nicht aufgezogen. Bei den folgenden Schwangerschaften stirbt aber der Embryo ungefähr in der Hälfte der Zeit ab und wird resorbiert. Diese Resorptionsschwangerschaft ist heilbar durch Zufuhr von Vitamin E, aber durch einen Ueberschuss von Vitamin E kann die Fruchtbarkeit nicht über die normalen Grenzen hinaus gesteigert werden.

Da Ovarialhormon sowohl bei der kastrierten, wie bei der infantilen Ratte, Hypophysenvorderlappenhormon nur bei der infantilen Ratte Cestrus und Hypertrophie des Uterus hervorrufen und nur letzteres durch Verabreichung von konzentrierten Vitamin E-Lösungen möglich ist, schliessen Verzár und seine Schüler⁷⁵⁾, dass das Vitamin E mit der Produktion dieses Hormons zusammenhänge, ohne dass es mit diesem identisch sein kann, da es ganz andere chemische Eigenschaften hat. Sie konnten auch die Veränderung im Haarkleid der männlichen Ratten mit diesem Hormon rück-

⁷³⁾ Calif. Univ. Mem., 8, 176, 1927.

⁷⁴⁾ Pflügers Arch., 227, 511, 1931.

⁷⁵⁾ Pflügers Arch., 223, 657, 1929 (Szarka); 227, 499 und 511, 1931.

gängig machen. So erklärt sich die Notwendigkeit der Zufuhr von Vitamin E bei beiden Geschlechtern. In späteren Stadien der Avitaminose können dann auch Störungen der Ovarialtätigkeit eintreten.

Das Vitamin E ist besonders reichlich in den Keimlingen der Cerealien, dann auch in grünen Blättern, in denen es auch nach dem Trocknen vorhanden ist, ebenso in den käuflichen pflanzlichen Ölen: z. B. Olivenöl, Kokosnussöl, Sesamöl (daher ist es begreiflich, dass es auch im Vigantol gefunden wurde, welches Sesamöl enthält). Es fehlt im Lebertran und im Schweineschmalz. In den tierischen Organen ist es am reichlichsten in der Hypophyse vorhanden. Es ist gegen Hitze, Licht, Luft ausserordentlich stabil, ebenso gegen Behandlung mit starken Alkalien und Säuren bei normaler Temperatur, fast unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether, Aceton, Essigäther und Schwefelkohlenstoff.

Verabreichung von Vitamin E-Präparaten an Menschen ist, auch nach Aussage von Evans, kaum notwendig. Vor allen Dingen dürfte es nicht als Aphrodisiacum in Betracht kommen, da das Verschwinden des Geschlechtsgefühles scheinbar erst nach der Hodendegeneration eintritt. Eine Einführung solcher Präparate in die Therapie und ihre Freigabe in den Handel sollte erst dann gestattet werden, wenn die Bedeutung des Ueberschusses von Vitamin E beim Menschen klinisch einwandfrei erprobt ist. Auch dann sollen nur kontrollierte Präparate in den Handel gebracht werden. Da nicht genügend gereinigte Präparate sich als sehr toxisch erwiesen haben, ist auch dieser Faktor genügend zu berücksichtigen.

A propos du dosage des sucres.

Par PAUL DEMONT, Dr. ès sciences.

Nous avons publié¹⁾ récemment un article relatif à l'emploi de la méthode de titrage iodométrique du cuivre pour doser les sucres, et cela sans faire mention de deux travaux antérieurs qui nous étaient totalement inconnus à ce moment. Ces deux travaux sont par ordre d'ancienneté: celui de R. Kaack et A. Eichstädt²⁾: «Zur Schnellbestimmung des Milchzucker», puis, celui de R. Intonti³⁾: «Sulla determinazione iodometrica del rame e sua applicazione al dosaggio dei zuccheri».

Ces auteurs ont aussi utilisé la méthode de Haën-Low et sont arrivés à des résultats absolument probants pour la valeur de la méthode. Kaack et Eichstädt ont employé intégralement le procédé de Low, tandis qu'Intonti l'a modifié en remplaçant l'action de l'eau de brome pour éliminer les oxydes d'azote par l'action d'une solution d'urée; nous mêmes avons main-

¹⁾ Tr. chim. alim., vol. XXII (1931), 48—51.

²⁾ Milchwirtschaftliche Forschungen, Bd. 6 (1928), 62—64.

³⁾ Annali di chimica applicata, vol. 20 (1930), 585—590.