

Bestimmung von Gesamt-Aneurin (Vitamin B) in Lebensmitteln. 3. Mitteilung über chemische Vitaminbestimmung

Autor(en): **Fellenberg, Th. von / Högl, O.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **33 (1942)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983208>

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.

BESTIMMUNG VON GESAMT-ANEURIN (VITAMIN B₁) IN LEBENSMITTELN

3. Mitteilung über chemische Vitaminbestimmung.

Von Dr. *Th. von Fellenberg*.

3. Mitteilung über Vitaminbestimmung in Lebensmitteln.

(Aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Vorstand: Dr. O. Högl.)

Vor kurzem habe ich gemeinsam mit *K. Bernhard*¹⁾ über die Bestimmung von freiem und als Disulfid gebundenem Aneurin in Lebensmitteln berichtet und dabei in Aussicht gestellt, die Bestimmungen noch durch diejenige der Co-Carboxylase (Aneurinpyrophosphat) und des an Eiweiss gebundenen Aneurins zu ergänzen.

Die Spaltung des Aneurindisulfids erfolgt nach *Zima, Ritsert* und *Moll*²⁾ durch Reduktion mit Cystein oder Glutathion. Die Co-Carboxylase wird nach *Kuhn* und *Gerhard*³⁾ durch Maltin, Merk, ein Maltasepräparat, welchem eine gewisse Menge Phosphatase anhaftet, in seine Komponenten zerlegt. Zur Spaltung des an Eiweiss gebundenen Aneurins ist eine Vorverdauung der Eiweisssubstanzen notwendig. Besonders gut eignet sich dazu Papayotin, welches von *Halliday* und *Deuel*⁴⁾ vorgeschlagen worden ist. Nach *P. Thomas*⁵⁾ arbeitet dieses Enzym am besten bei pH 4—7 und zwar besonders, wenn es durch Cystein oder Glutathion aktiviert ist.

Da das eine oder andere dieser beiden Reduktionsmittel ja schon zur Spaltung des Aneurindisulfids benötigt wird — wir verwenden Cystein — kann es gleich in doppelter Funktion dienen, einerseits, um diese Aufspaltung zu bewirken, andererseits, um das Papayotin zu aktivieren.

Ein weiterer günstiger Umstand liegt nun darin, dass die Phosphatase des Maltins bei pH 4,5 wirkt, einem pH, bei welchem auch das Papayotin seine enzymatische Tätigkeit entfaltet. Wir können somit die verschiedenen Formen des gebundenen Aneurins, das Disulfid, das Pyrophosphat und das an Eiweiss gebundene Aneurin in derselben Operation spalten, wenn wir Cystein, Maltin und Papayotin zugleich zugeben.

Bestimmung der verschiedenen Bindungsformen des Aneurins in Presshefe

Zunächst wurden einige Vorversuche mit Hefe gemacht, hauptsächlich, um die Bedingungen der Spaltung der Co-Carboxylase durch Maltin zu untersuchen. Hefe eignete sich besonders gut, da in ihr dieses zur Gärung notwendige Enzym in besonders reichlicher Menge zugegen sein musste.

Ein 2 %iger Auszug von Presshefe, der durch Aufkochen mit 0,25 n-HCl erhalten worden war, ergab

	γ Aneurin
direkt	9,5
mit Cysteinzusatz	9,5

Aneurindisulfid ist somit nicht vorhanden.

Der Auszug wurde nun bei pH 4,5 unter Zusatz einiger Tropfen Toluol mit steigenden Mengen Maltin verschiedene Zeit bei 35° gehalten und dann wie in der frühern Arbeit (l. c.) angegeben verarbeitet. Man erhielt folgende Resultate:

Einwirkungsdauer	g Maltin auf 20 cc	γ % Aneurin
1 Std.	0,2	63
	0,4	182
	0,6	213
2 Std.	0,2	146
	0,4	300
	0,6	395
3 Std.	0,2	216
	0,4	410
	0,6	410

Mit 0,2 g Maltin wird auch nach 3 Stunden erst die Hälfte der Co-Carboxylase gespalten; diese Enzymmenge ist also ungenügend. Mit 0,4 g Maltin erhält man nach 2 Stunden 75 %, nach 3 Stunden das Maximum. Mit 0,6 g findet man nach 2 Std. bereits nahezu das Maximum. Die Menge von 0,4 g Maltin auf 20 cc Flüssigkeit genügt somit bei 3 stündiger Einwirkung bei einem so co-carboxylase-reichen Material wie Hefe; sie dürfte somit auch in allen andern Fällen genügen. Es stimmt dies ziemlich gut überein mit der Vorschrift von *Kuhn* und *Gerhard* (l. c.), welche auf 12 cc Flüssigkeit 0,3 g Maltin verwenden, was auf 20 cc 0,5 g ausmachen würde.

Um das an Eiweiss gebundene Aneurin in der Hefe abzuspalten, ist der Zusatz von Papayotin unnötig; man kann sich der in der Hefe enthaltenen proteolytischen Enzyme bedienen.

Man unterwarf die Presshefe der Autolyse, indem man sie in einem Wasserbad bis zur vollständigen Verflüssigung auf 50° erwärmte, was nach ungefähr

7 Stunden geschehen war. Nach 7¹/₂ Stunden wurde eine Probe zur Untersuchung entnommen und der Rest noch weitere 3 Stunden in gleicher Weise erwärmt und nochmals untersucht. Man fand:

	‰ Aneurin
7 ¹ / ₂ Std. autolysiert, direkt	510
10 ¹ / ₂ Std. autolysiert, direkt	500
mit Cystein	630

Die Zeit von 7 Stunden genügte somit zur Autolyse der Presshefe. Man fand hier im Gegensatz zu dem direkten Hefeauszug eine ziemliche Menge Aneurindisulfid, 130 γ ‰, welches offenbar an Eiweiss gebunden war.

Suchen wir nun, aus diesen Zahlen die verschiedenen Bindungsarten des Aneurins in der Presshefe zu berechnen. Wir finden

	auf frische Substanz γ ‰ Aneurin	auf Trockensubstanz γ ‰ Aneurin
Freies Aneurin	9,5	36
Aneurindisulfid	0	0
Co-Carboxylase	400	1520
An Eiweiss gebundenes Aneurin	90	343
An Eiweiss gebundenes Aneurindisulfid	130	495
Gesamtaneurin	<u>630</u>	<u>2394</u>

Die Co-Carboxylase überragt die übrigen Bindungsformen des Aneurins in der Presshefe bei weitem, sie macht ²/₃ des Gesamten aus.

Bestimmung der verschiedenen Formen des Aneurins in Kartoffeln, Grünkohl und Rotkraut

Man verarbeitete zunächst eine Kartoffel, Sorte Centifolia. 10 g wurden unter Zusatz von Quarzsand mit 5 cc n-HCl verrieben, auf 100 cc aufgefüllt und auszentrifugiert. Man fand:

	γ ‰ Aneurin
direkt	59
mit Cysteinzusatz	64
Differenz, als Aneurindisulfid	5

Zur Co-Carboxylasebestimmung wurden 100 cc Zentrifugat mit 0,25 cc n-Natriumacetatlösung versetzt und mit Natronlauge vorsichtig auf pH 4,5 gebracht, wobei Liphanpapier als Indikator benutzt wurde. Man benötigte 0,25 cc n-NaOH. Nun wurde die Flüssigkeit mit 0,3 g Maltin und 3 Tropfen Toluol 3 Stunden bei 35° gehalten und untersucht. Man fand:

	γ ‰ Aneurin
direkt	66
mit Cysteinzusatz	71

Die Maltinbehandlung hat eine Vermehrung von 7 γ ‰ Aneurin als Co-Carboxylase bewirkt.

Die Verdauung zwecks Bestimmung des an Eiweiss gebundenen Aneurins geschah mit Papayotin unter gleichzeitigem Zusatz von Maltin und Cystein, so dass auch die Co-Carboxylase und das Disulfid mitbestimmt wurden. Nach 5-stündiger Einwirkung bei 40° fand man 91 γ ‰ Gesamtaneurin. Wir haben somit in dieser Kartoffel:

	γ ‰
Freies Aneurin	59
Aneurindisulfid	5
Co-Carboxylase	7
An Eiweiss gebundenes Aneurin	20
Gesamtaneurin	<u>91</u>

Die kleinen Mengen von 5 und 7 γ ‰, die ja nicht für sich allein, sondern als Vermehrung des Hauptwertes erhalten worden sind, besagen nicht sehr viel; sie sind etwas unsicher. Es zeigte sich später, dass unser Maltin nicht ganz frei von Aneurin ist. Bei der von uns durchwegs angewendeten Menge bewirkt sie einen positiven Fehler von etwa 3 γ ‰. In unserer Kartoffel sind jedenfalls Aneurindisulfid und Co-Carboxylase nur in sehr untergeordneter Menge vorhanden, während das an Eiweiss gebundene Aneurin schon bedeutend mehr ausmacht.

Aus diesen Versuchen geht noch nicht hervor, ob die Verdauung nach 5 Stunden beendet ist. Die Hauptmenge der Flüssigkeit wurde deshalb weitere 17 Stunden bei 35° und dann noch 8 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Man fand denselben Wert wie vorher. In Zukunft liess man die Flüssigkeit zur Bestimmung des Gesamtaneurins nach Zusatz der Enzyme stets 5 Stunden oder, wenn dies gerade bequemer war, über Nacht bei 40° stehen.

Wir haben bei der Untersuchung dieser Kartoffel angenommen, dass bei dem kalten Verreiben mit Salzsäure das gesamte Eiweiss und damit das an Eiweiss gebundene Aneurin in Lösung gehe. Man konnte auch in dem Auszug reichlich Eiweiss nachweisen. Es sollte nun bei einem Gemüse untersucht werden, ob diese Annahme wirklich zutrifft, ob nicht vielleicht ein Teil des Eiweiss beim Zentrifugieren zusammen mit den unlöslichen Bestandteilen abgeschieden wird und dessen eventueller Aneuringehalt so der Bestimmung entgeht.

Ein am 18. Dezember frisch aus dem Garten geernteter Grünkohl (Marcelin) wurde verarbeitet. Das fein geschnittene Material wurde wieder mit Salzsäure und Quarzsand verrieben, auf pH 4,5 gebracht und auf das 10 fache verdünnt.

Ein Teil des Breis wurde zentrifugiert. Nur darin bestimmte man das freie und das als Disulfid vorhandene Aneurin. Die Behandlung mit Maltin und mit Maltin, Cystein und Papayotin wurde jedoch sowohl im Zentrifugat als auch im Brei vorgenommen, wobei man beide male genau denselben Wert erhielt. Somit geht das an Eiweiss gebundene B₁ und wohl auch das Eiweiss selbst quantitativ in das Zentrifugat über. Genau gleich verhielten sich auch Cerealien, deren Mehl mit 0,25 cc n-Salzsäure aufgekocht worden war.

Man fand bei diesem Grünkohl:

	γ %
Freies Aneurin	29
Aneurindisulfid	2
Co-Carboxylase	59
An Eiweiss gebundenes Aneurin	32
Gesamtaneurin	<u>122</u>

Der Wert des Disulfids liegt innert der Fehlergrenze. Unter den verschiedenen Bindungsformen wiegt die Co-Carboxylase vor.

Man untersuchte nun roten Kabis aus demselben Garten, wobei ein Exemplar am 25. Oktober, ein anderes am 9. Dezember eingekellert worden war. Die Untersuchung geschah 10 Tage nach dem letztern Datum. Da in diesem Fall auch der Ascorbinsäuregehalt von Interesse ist, sei er zur Charakterisierung der bei der Lagerung sich abspielenden Vorgänge ebenfalls mitgeteilt. Vom Aneurin wurden wieder die verschiedenen Bindungsformen bestimmt. Man fand:

	geerntet am	
	25. X.	9. XII.
mg % Ascorbinsäure	63,8	82,8
γ % freies Aneurin	69	76
Aneurindisulfid	0	0
Co-Carboxylase	39	54
An Eiweiss gebundenes Aneurin	0	14
Gesamtaneurin	<u>108</u>	<u>144</u>

Nicht nur der Ascorbinsäuregehalt, sondern auch der Gehalt an Gesamtaneurin ist bei dem länger im Freien gebliebenen Rotkraut höher als bei dem früher eingekellerten. Bei letzterem haben alle drei Bindungsformen, die nachweisbar sind, abgenommen.

Es lag nun nicht in meiner Absicht, bei allen zu untersuchenden Nahrungsmitteln alle vier Bindungsformen des Aneurins zu bestimmen. Es kommt praktisch lediglich auf das Gesamtaneurin an, da alle Bindungsformen physiologisch gleichwertig sind. Man bestimmte denn auch in der Regel nur das gesamte und allenfalls noch das freie Aneurin.

Aneurinbestimmungen in 30 Kartoffelproben

Ich war in der Lage, 30 Kartoffelproben, die sich auf 20 verschiedene Sorten beziehen und die uns durch Vermittlung der Eidg. Alkoholverwaltung in verdankenswerter Weise in erster Linie zur Bestimmung der Ascorbinsäure zur Verfügung gestellt worden waren, auch auf B₁ zu untersuchen. Die Kartoffeln wurden im Oktober in einen sehr guten Keller in Muri eingekellert und um den 20. Januar untersucht. Man fand:

Tab. 1 Aneurin Gehalt von 30 Kartoffelproben

Nr.	Sorte	Herkunft	γ % Aneurin	
			frei	gesamt
1.	Ersteling	Witzwil	50	88
2.	Ersteling	Gampelen	55	75
3.	Böhms, allerfr. gelbe	Witzwil	49	88
4.	Böhms, allerfr. gelbe	Gampelen	38	58
5.	Bintje	Niederscherli	54	110
6.	Bintje	Gampelen	40	77
7.	Erdgold	Herzogenbuchsee	52	83
8.	Ackersegen	Herzogenbuchsee	130	160
9.	Ackersegen	Gampelen	35	85
10.	Weltwunder	Niederscherli	76	127
11.	Alma	Witzwil	110	135
12.	Industrie	Niederscherli	52	85
13.	Industrie	Gampelen	45	88
14.	Ideal	Witzwil	86	110
15.	Ideal	Gampelen	65	107
16.	Centifolia	Witzwil	58	87
17.	Centifolia	Gampelen	53	73
18.	Sabina	Niederscherli	56	78
19.	Sabina	Gampelen	58	103
20.	Voran	Niederscherli	90	140
21.	Voran	Gampelen	47	142
22.	Sickingen	Herzogenbuchsee	82	110
23.	Ostbote	Witzwil	46	77
24.	Blaue Odenwälder	Gampelen	38	65
25.	Mille fleurs	Lausanne	68	77
26.	Eva	Utzenstorf	48	64
27.	Up to date	Rossberg	80	117
28.	Jubel	Rossberg	38	72
29.	Wohltmann	Rossberg	105	180
30.	Flava	Rossberg	55	106

Im Mittel sind 62 γ % freies und 106 γ % gesamtes Aneurin gefunden worden. In 9 Fällen konnte dieselbe Sorte von zwei verschiedenen Standorten untersucht werden. In 5 Fällen stimmen die beiden Werte recht befriedigend überein, in 4 Fällen sind aber grosse Differenzen aufgetreten. Auch wenn wir die verschiedenen Sorten vom gleichen Standort miteinander vergleichen, finden wir grosse Unterschiede.

Der Gesamtaneuringehalt schwankt zwischen 58 und 180 γ %, das freie Aneurin zwischen 35 und 110 γ %.

Einfluss des Kochens auf den B₁-Gehalt von Sauerkraut, Kohl und Kartoffeln

Da der Gehalt der Nahrungsmittel an Vitaminen nicht nur in rohem Zustand, sondern besonders auch nach dem Kochen von Interesse ist, wurden verschiedene Kochverfahren nebeneinander am gleichen Material geprüft. Diese Kochversuche wurden auf Anregung von Priv. Doz. Dr. A. Zeller, Basel, ausgeführt, und zwar in erster Linie, um die Aenderungen im Ascorbinsäuregehalt zu studieren, worüber an dieser Stelle nicht zu berichten ist.

Die Kochverfahren waren:

1. Gewöhnliches Aufkochen mit Wasser und leichtes Sieden während bestimmten Zeiten.
2. Aufkochen, dann Einbringen in einen auf 80—85° angewärmten Thermostaten und allmähliche Abkühlung während 2 $\frac{1}{2}$ Stunden auf 50°. Dieses Vorgehen sollte die Verhältnisse, die beim Kochen in der Kochkiste herrschen, nachahmen.
3. Erhitzen im Dampfkochtopf. Man stellt das Ventil auf 118°, erhitzt während 15 Minuten, lässt auf etwa 60° abkühlen, öffnet den Topf und untersucht den Inhalt.

Man untersuchte stets das feste Material samt dem dazugehörigen Kochwasser und bezog die Werte auf die Anfangsgewichte.

1. *Sauerkraut.* Ein im Herbst selbst hergestelltes Sauerkraut wurde am 22. Januar untersucht. Man fand:

	γ % Aneurin	
	frei	gesamt
Rohes Sauerkraut	25	37
Dessen Saft	25	37
Gewöhnliches Kochen während 1 Std.	27	33
Gewöhnliches Kochen während 2 Std.	22	29
Gewöhnliches Kochen während 3 Std.	22	30
Thermostat	22	30
Dampfkochtopf	25	38

Das Kochen im Dampfkochtopf hat keine Verminderung zur Folge gehabt. Die 3 Kochzeiten von 1—3 Stunden zeigen nur geringe Differenzen unter sich und geben überall etwas weniger, als ursprünglich vorhanden ist. Der Thermostat gibt dasselbe Resultat wie das 2 oder 3 stündige Kochen.

Die Unterschiede sind nun aber überall so gering, dass sie teilweise innert der Versuchsfehlergrenze liegen. Man könnte lediglich sagen, dass wesentliche Verluste in keinem Fall eingetreten sind.

2. *Grünkohl*. Der Versuch wurde am 28. Januar ausgeführt. Man fand:

	y % Aneurin	
	frei	gesamt
Roh	105	137
Gewöhnliches Kochen, 1 Std.	105	125
Gewöhnliches Kochen, 2 Std.	105	119
Gewöhnliches Kochen, 3 Std.	105	122
Thermostat	105	137
Dampfkochtopf	105	137

Beim direkten Kochen sind hier überall kleine Verluste eingetreten, die Versuche im Thermostat und im Dampfkochtopf lassen hingegen keine Abnahme des Aneurin gehaltes feststellen.

3. *Kartoffeln*. Sorte Ackersegen, am 27. Januar untersucht. Man fand:

	y % Aneurin	
	frei	gesamt
Roh	45	77
Gewöhnliches Kochen, 1 Std.	76	83
Gewöhnliches Kochen, 2 Std.	70	80
Gewöhnliches Kochen, 3 Std.	55	78
Thermostat	55	78
Dampfkochtopf	50	74

Die Werte sind hier sehr unregelmässig. Das rührt davon her, dass die Kartoffeln von Knolle zu Knolle Differenzen in ihrer Zusammensetzung, auch in ihrem Vitamingehalt aufweisen können.

Wir sehen aus unsern Kochversuchen, dass das Aneurin, wie ja bereits seit langem bekannt, recht kochbeständig ist und dass Verluste beim Kochen in grösserem Masse nicht zu befürchten sind, falls das Kochwasser, welches ja die löslichen Vitamine grossenteils enthält, mitverwendet wird.

Die Methodik der Bestimmung des Gesamtaneurins ist, abgesehen von der Verdauung, ähnlich, wie ich sie früher gemeinsam mit Bernhard (l. c.) beschrieben habe. Jedoch wende ich die Filtration durch Aluminiumoxyd nicht mehr an.

Bei den weniger sauren Lösungen, die hier vorliegen, ist die Gefahr vorhanden, dass sie bei dieser Filtration neutralisiert werden; dann aber finden Verluste durch Adsorption von Aneurin statt, da dieses nur in saurer Lösung die Aluminiumoxydsäule passiert. Ich beschränkte mich daher ganz auf die Vorextraktion mit Isobutanol aus salzsaurer Lösung, um die Nebenfluoreszenzen zu entfernen. In der Regel kommt man bei Cerealien und Samen mit einer dreifachen Vorextraktion aus, ebenso bei manchen Gemüsen. Bei Beeren und einzelnen Gemüsen, ebenso bei Gebäcken und Röstprodukten muss man aber oft 5—7 mal vorextrahieren, um die Nebenfluoreszenzen ganz oder doch bis auf einen kleinen Restbetrag zu entfernen. Es ist dies etwas umständlich, hat aber den Vorteil der Sicherheit gegenüber der Adsorption durch alle möglichen Adsorptionsmittel, deren Beschaffung in der richtigen Qualität oft schwierig ist.

Bei der Fluoreszenzmessung verwende ich nur noch den Test von 0,5 μ . Es hat sich gezeigt, dass er sich für die schwächsten wie für die stärksten Fluoreszenzen gut eignet.

Methodik der Bestimmung des Gesamtaneurins in Lebensmitteln

Reagentien: Aneurinlösung: eine Stammlösung, die pro cc 0,1 mg Aneurinchlorhydrat Hoffmann-La Roche enthält, wird auf das 10 fache verdünnt, so dass 1 cc 10 μ Aneurinchlorhydrat enthält. Die Lösung soll nicht mehr als 14 Tage alt sein. Cysteinchlorhydrat, Hoffmann-La Roche, Papayotin 1:100 D. Ap. V. 5, Merk, Diastase (Maltin), Merk, 0,25 n-Salzsäure, n-Natriumacetat, n-Natronlauge, 30 %ige Natronlauge, 1%ige Kaliumferricyanidlösung, Isobutanol.

Bei wasserreichen Materialien, wie Gemüsen, Kartoffeln, Obst und Beeren, stellt man 10 %ige Auszüge her. Es werden 5—10 g, bei heterogenen Materialien zwecks guter Probeentnahme auch mehr, abgewogen und in einer Reibschale mit 0,25 n-Salzsäure und etwas Quarzsand zu einem feinen Brei verrieben. Wenn das Gewicht der abgewogenen Menge = p ist, so verwendet man 1,5 p Salzsäure. Nach dem Verreiben verdünnt man mit 5 p Wasser, fügt 0,15 p Natriumacetatlösung und unter Umrühren so viel n-Natronlauge hinzu, dass pH = 4,5 wird. Man braucht meist etwa 0,3 p NaOH dazu. Man giesst den Brei nun in einen Messzylinder, verdünnt mit Wasser auf 10 p cc, zentrifugiert und giesst die klare überstehende Flüssigkeit ab. Sollte sie durch Partikelchen, die an der Oberfläche schwimmen, getrübt sein, so filtriert man sie durch Watte.

Bei trockenen Materialien, wie Getreide, Leguminosen, Pflanzenkernen, genügt ein 5 %iger, oft auch ein 2 %iger Auszug. Im erstern Fall kocht man 2,5, im letztern 1 g des fein gemahlten Materials mit 15 cc 0,25 n-HCl auf. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 20 cc Wasser, setzt 1 cc Natriumacetatlösung zu und bringt mit n-NaOH auf pH 4,5. Man benötigt dazu bei Verwendung von 2,5 g Material meist 2,8 cc NaOH. Man verdünnt den Brei zum Schluss in einem Messzylinder auf 50 cc.

Von dem auf die eine oder andere Weise erhaltenen Auszug pipettiert man 2 Proben von 2 cc in Reagensgläser von 18 mm Durchmesser und 50 cc Inhalt, in welche man vorher je 1 mg Cystein, 5 mg Papayotin und 40 mg Maltin eingebracht hat. Bei Serienanalysen empfiehlt es sich, Lösungen von beispielsweise 20 mg Cystein, 100 mg Papayotin und 800 mg Maltin in 10 cc Wasser kalt zu lösen und jeder Probe 0,5 cc dieser Lösung zuzugeben.

Die so beschickten Reagensgläser werden mit 1 Tropfen Toluol versetzt, verschlossen und in einen auf 40° eingestellten Thermostaten gesetzt. Nach 5 Stunden kann die Verdauung abgebrochen werden. Man kann aber die Proben auch über Nacht im Thermostaten lassen, wenn dies gerade bequemer ist.

Man setzt nun zu jeder Probe 0,2—0,3 g Kochsalz, 10 cc Isobutanol und 0,1 cc konz. HCl zu, schüttelt etwa 200 mal kräftig durch und zentrifugiert 5 Minuten in einer Gerberschen Milchzentrifuge. Die überstehende klare Isobutanol-lösung wird weitgehend abgegossen und der Rest so gut wie möglich abgehoben. Die abgegossene Flüssigkeit prüft man unter der Quarzlampe unter Vergleichen mit reinem Isobutanol. Falls sie Fluoreszenz aufweist, was meist der Fall ist, so wiederholt man die Extraktion so oft wie nötig ist, indem man jedesmal 0,05 cc konz. HCl zusetzt. Der letzte Auszug soll kaum mehr fluoreszieren, sondern die gleiche blaue Färbung aufweisen wie Isobutanol.

Die wässrige Lösung im einen Reagensglas wird nun zur Ueberführung des Aneurins in Thiochrom mit 0,1 cc Ferricyanidlösung und 1 cc 30 %iger Natronlauge versetzt, geschüttelt und 2 Minuten stehen gelassen. Die andere Probe, die Kontrolle, wird mit Natronlauge allein versetzt. Man fügt nun in beiden Fällen 9,7 cc Isobutanol hinzu, was mit einem kleinen von der Extraktion her verbliebenen Rest ziemlich genau 10 cc ausmacht, schüttelt 200 mal kräftig durch, zentrifugiert wieder und giesst die klare Lösung, welche das aus Aneurin entstandene Thiochrom enthält, in ein Reagensglas über.

Gleichzeitig setzt man eine Testlösung an. Man pipettiert 0,05 cc der Aneurinlösung = 0,5 μ g Aneurinchlorhydrat in ein grosses Reagensglas, setzt 2 cc Wasser zu und oxydiert, diesmal nur mit 0,05 cc Ferricyanidlösung und 1 cc 30 %iger Natronlauge, schüttelt, zentrifugiert und giesst ab wie angegeben.

Die Fluoreszenz des entstandenen Thiochroms wird nun mit dem der Testlösung unter der Quarzlampe verglichen. Man benützt Reagensgläser aus böhmischem, nicht fluoreszierendem Glas von 13 mm Durchmesser und geht so vor:

Man misst vom Hauptversuch (b) und vom Blindversuch (a) gleiche Mengen, bei starker Fluoreszenz beispielsweise 1 cc, bei schwacher vielleicht 4—6 cc in die Proberöhrchen ab und verdünnt im erstern Fall beide Flüssigkeiten mit reinem Isobutanol gleich auf etwa 3 cc. Nun gibt man zum Blindversuch portionenweise kleine Mengen Testlösung, beobachtet jedesmal ganz kurz unter der Lampe und fährt mit dem Zusatz fort, bis die Fluoreszenzen ungefähr gleich sind. Nun bringt man die Lösungen durch Zusatz von Isobutanol wieder auf gleiches Volumen und setzt weiter Testlösung zu, bis die Fluoreszenzen identisch

sind. Hat man übertitriert, so fügt man in das Röhrchen b) noch die nötige Menge Versuchslösung zu, um Gleichheit der Fluoreszenzen zu erhalten, gibt aber gleichzeitig zu a) ebensoviel vom Blindversuch. Zum Schluss müssen die Fluoreszenzen identisch und die Volumina gleich sein. Ferner hat man bei diesem Vorgehen in der Probe a) ebensoviel Flüssigkeit vom Blindversuch wie in der Probe b) vom Hauptversuch. Dadurch hat man den Ausgleich für die letzten Spuren Eigenfluoreszenz, die etwa noch zugegen sind. Sie befinden sich in gleicher Menge in beiden Röhrchen.

Die Berechnung erfolgt als Chlorhydrat nach der Gleichung:

$$y \text{ } \% \text{ Aneurinchlorhydrat} = \frac{a}{b} \cdot T \cdot \frac{5000}{p}, \text{ wobei}$$

a = cc Testlösung

b = cc Versuchslösung

T = y Aneurin bei der Testbereitung, in unserm Fall also 0,5

P = Prozentgehalt an Ausgangsmaterial im sauren Auszug.

Die folgende Tabelle gibt unsere Analysenresultate wieder.

Tab. 2 *Gehalt an Gesamtaneurin in Nahrungsmitteln*

<i>Cerealien</i>	y % Gesamt B ₁
Weizen	550
Weizenoberhaut	156
Backmehltyp 13 vom 13. V. 42	670
Halbweisses Mehl, älteres Muster	43
Weissmehl, älteres Muster	28
Gerste, ganze	520
Rollgerste	90
Hafer, ganz	465
Hafergrütze	340
Haferflocken	530
Vollreis	340
Reis, Maratello	91
Reis, Siam	48
Reis, polierter	56
Maisgries	312

<i>Kerne, Samen</i>	y ‰ Gesamt B ₁
Haselnüsse	615
Mandeln	265
Pfirsichkerne	368
Zwetschgenkerne	370
Apfelkerne	485
Traubenkerne	0
Himbeerkerne	225
Rote Johannisbeerkerne	0
Schwarze Johannisbeerkerne	367
Kirschkerne	715
 <i>Kohlgewächse</i>	
9. VII. Kabis	111
19. XII. Roter Kabis, 25. X. eingekellert	108
19. XII. Roter Kabis, 9. XII. eingekellert	144
1. VII. Blumenkohl	94
18. XII. Grünkohl, Marcelin	122
 <i>Blattgemüse</i>	
12. V. Winterspinat	170
1. VII. Sommerspinat	200
12. V. Schnittmangold	102
1. VII. Schnittmangold	67
12. V. Rippenmangold, Blatttrippen	185
12. V. Rhabarber, Stengel	144
1. VII. Rhabarber	50
 <i>Salate</i>	
1. VII. Kopfsalat	112
1. VII. Pflücksalat	62
12. V. Kresse	90
 <i>Wurzelgewächse</i>	
15. V. Karotten, Saucenrübli	50
1. VII. Karotten, Saucenrübli	60
9. VII. Rotrettig, Randen	15
9. VII. Bierrettig	60
9. VII. Meerrettig	22
1. VII. Rübkoohl	138
20. I. Kartoffeln	64—180

	<i>Früchtegemüse, a) frische</i>	y ‰ Gesamt B ₁
1. VII.	Grüne Erbsen	287
9. VII.	Grüne Bohnen	112
9. VII.	Gurken	28
9. VII.	Tomaten	90
	<i>Früchtegemüse, b) getrocknete</i>	
	Gelbe Erbsen	1110
	Grüne Erbsen	910
	Gelbe Erbsen, polier, ohne Oberhaut	335
	Gelbe Erbsen mit Oberhaut	600
	Weisse Bohnen, Musbohnen	433
	Linsen	970
	<i>Zwiebelgewächse</i>	
15. V.	Zwiebeln	350
15. V.	Knoblauch	575
12. V.	Lauch (letztjährig)	73
1. VII.	Lauch, kleines Exemplar	100
12. V.	Schnittlauch	124
1. VII.	Schnittlauch	104
	<i>Küchenkräuter</i>	
12. V.	Petersilie (letztjährig)	192
1. VII.	Petersilie, dem Blühen nahe	75
1. VII.	Majoran	63
12. V.	Salbei	160
1. VII.	Salbei	175
	<i>Obst und Beeren</i>	
23. I.	Aepfel, Boscoop	22
23. I.	Aepfel, Menznauer Jäger	18
23. I.	Aepfel, Walliser Canadareinette	11
23. I.	Aepfel, Berner Rosen	8
	Stachelbeeren	28
	Johannisbeeren	33
	Himbeeren	30
	Walderdbeeren	22
	Gartenerdbeeren	25

Wie bekannt, sind die Nüsse, Kerne, Samen, Leguminosen, Cerealien am reichsten an B₁. Mittlere Gehalte weisen Kohlgewächse, Blattgemüse, Salate, Zwiebelgewächse auf, geringere Wurzelgewächse und die geringsten Obst und Beeren.

Wie ein Vergleich mit den früher (l. c.) gegebenen Zahlen des freien Aneurins zeigt, findet dieses Vitamin sich in den Cerealien und Samen vorwiegend in freier, in den meisten andern vegetabilischen Nahrungsmitteln hauptsächlich in gebundener Form. So wurde bei den Aepfeln 0—3 μ % freies B₁ gefunden gegenüber 8—22 gesamtem, bei den Blattgemüsen 0—37 gegen 50—200. Ohne Bestimmung des gesamten Aneurins erhält man somit ein durchaus falsches Bild vom wirklichen physiologisch wirksamen Gehalt.

Folgende Tabelle bringt eine Zusammenstellung von biologisch und chemisch bestimmten B₁-Gehalten der Literatur im Vergleich zu meinen eigenen Werten. Die ersteren Werte sind dem Buch von *Lunde*⁶⁾ entnommen. Die dort angegebenen internationalen Einheiten sind durch Multiplikation mit 3 in μ % umgerechnet.

Tab. 3 Vergleichung von Vitamin B₁-Werten der Literatur mit eigenen Werten

	biologisch	biologisch und chemisch	Eigene Werte
	μ %	μ %	μ %
Grüne Bohnen		75 — 90	112
Grüne Erbsen		210 — 300	287
Tomaten	120	60	90
Spinat	120 — 140	60 — 90	170 — 200
	60		
	210		
Karotten	180	60	50 — 60
Kartoffeln	120	120 — 150	64 — 180
Beeren		18 — 36	22 — 33
Weizenvollmehl	450	390 — 480	670
Weizen, ganz, bzw. Schrot		600	550
Hafer, ganz, bzw. Vollmehl		450 — 510	465
Gerste, ganz, bzw. Vollmehl		465 — 630	520
Maisgries		480	312

Meine eigenen Werte stimmen innert der natürlichen Variationsbreite gut mit denen der Literatur überein.

Zusammenfassung

Fussend auf der Spaltung des Aneurindisulfids mit Cystein nach *Zima, Ritsert* und *Moll*, der Co-Carboxylase mit Maltin nach *Kuhn* und *Gerhard* und des an Eiweiss gebundenen Aneurins mit Papayotin nach *Halliday* und *Deuel* wurde eine Methodik der Gesamtaneurinbestimmung nach dem Thiochromverfahren ausgearbeitet und auf zahlreiche Nahrungsmittel angewendet.

Es werden die verschiedenen Bindungsarten des Aneurins in Presshefe, Kartoffeln, Grünkohl und Rotkraut bestimmt. Ferner werden das freie und das gesamte Aneurin in 30 Kartoffelproben, die sich auf 20 Sorten erstrecken, bestimmt.

Man bestimmt den Einfluss verschiedener Kochmethoden auf den Aneurin-gehalt bei verschiedenen Nahrungsmitteln.

Résumé

Nous basant sur les travaux de *Zima, Ritsert* et *Moll*, qui ont scindé le disulfure d'aneurine au moyen de la cystéine, de *Kuhn* et *Gerhard*, qui ont soumis la co-carboxylase à l'action de la maltine, et de *Halliday* et *Deuel* qui ont mis en liberté l'aneurine combinée aux protéines à l'aide de la papayotine, nous avons élaboré une méthode de dosage de l'aneurine totale d'après le procédé au thiochrome et l'avons appliquée à de nombreuses denrées alimentaires.

Nous avons déterminé d'autre part de quelle manière l'aneurine se trouvait liée dans la levure pressée, les pommes de terre, les choux verts et les choux rouges. Par ailleurs, nous avons dosé l'aneurine libre et totale dans 30 échantillons de pommes de terre, comprenant 20 espèces différentes.

Pour terminer nous avons examiné l'influence de diverses méthodes de cuisson sur la teneur en aneurine d'un certain nombre d'aliments.

Literaturnachweis

- 1) *Th. v. Fellenberg* und *K. Bernhard*, diese Mitt. 33, 59, 1942.
- 2) *O. Zima, K. Ritsert* und *Th. Moll*, Z. physiolog. Chem. 267, 210, 1941.
- 3) *A. Kuhn* und *H. Gerhard*, Klin. Wochenschr. 20, 867, 1941.
- 4) *Nellie Halliday* and *Harry J. Deuel*, The Journ. of Biolog. Chemistry 140, 555, 1941.
- 5) *Pierre Thomas*, Manuel de Biochimie, Masson et Cie, Paris 1936.
- 6) *Gulbrand Lunde*, Vitamine in frischen und konservierten Nahrungsmitteln, Julius Springer, Berlin 1940.