

### References

1. ABT, A. F. and S. SCHUCHING, Ann. New York Acad. Sci. **92**, 148 (1961). — 2. SIGURJONSSON, J., Brit. J. Nutrit. **2**, 275 (1949). — 3. SIGURJONSSON, J., Brit. J. Nutrit. **5**, 216 (1951). — 4. SIGURJONSSON, J., Internat. Z. Vitamin-Forschg. **25**, 186, (1954).

#### Authors' address

Prof. Dr. J. SIGURJONSSON, Department of Hygiene, University of Iceland, Reykjavik (Iceland)

*Aus dem Institut für Ernährung in Potsdam-Rehbrücke  
der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin*

## Zur Frage der Vitaminversorgung durch die Darmflora

Von B. GASSMANN, H. HAENEL, H.-A. KETZ und M. ZOBEL

Mit 4 Abbildungen und 3 Tabellen

(Eingegangen am 18. Oktober 1963)

Entscheidend für die Ausnutzbarkeit der von der Darmflora synthetisierten Vitamine ist ihre Resorptionsfähigkeit; diese wird durch die Zustandsform der Vitamine und die Resorptionskapazität der distalen Darmabschnitte bestimmt. Da sich mit konventionellen Methoden nicht feststellen läßt, ob ein im Darm vorliegendes Vitamin aus der Nahrung, der mikrobiellen Biosynthese oder den Verdauungs- und Darmsäften stammt, haben wir versucht, mit Hilfe von radioaktiv markiertem Vitamin B<sub>1</sub> als Modellfall und Ratten als Versuchstieren Aufschlüsse über den Anteil der Darmflora an der Vitaminversorgung des Makroorganismus zu gewinnen.

Einer Reihe neuerer Befunde an Tieren (1–4, 6, 20, 29, 31–33) stehen Versuche von FUJITA und Mitarb. (25, 26, 34, 35) am Menschen entgegen, die nach Zugabe von 2% Zellulose zur Kost einer Versuchsperson zur Stimulierung der intestinalen Vitaminsynthese und einem an der Harnausscheidung erkennbaren Vitamin-B<sub>1</sub>-, -B<sub>2</sub>-, -B<sub>6</sub>-, Folsäure-, Pantothensäure- und Niacinangebot durch die Darmflora geführt haben. Die Möglichkeit, über eine zellulosereiche Kost die Vitaminversorgung zu verbessern, wäre von praktischer Bedeutung. Wir haben darum an mehreren Personen einen Ernährungsversuch mit einer entsprechenden Diät durchgeführt und die Ausscheidung einiger B-Vitamine im Harn verfolgt.

### Versuchsanordnung

1. Zur Untersuchung der Ausnutzbarkeit in Bakterien gebundener Vitamine werden nach der früher beschriebenen Arbeitsweise (15) in mehreren Ansätzen jeweils 1,8 l, <sup>35</sup>S-Thiaminbromid-hydrobromid (1. Ansatz: 160 mg, 27,2 mc) enthaltende Nährlösungen mit einer 12 Std. in Peptonwasser vorbebrüteten Coli-Kultur beimpft und 18 Std. inkubiert. Die abzentrifugierten Zellen werden 7mal mit 50 ml physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit einem Homogenisator suspendiert.

Das in der Nährlösung verbliebene unverbrauchte <sup>35</sup>S-Thiamin wird durch Eindampfen der auf pH 2 gebrachten Lösung im Vakuum der Wasserstrahlpumpe, Aufnahme des Rückstandes in 500 ml 96%igem Alkohol, Filtrieren, erneutes Eindampfen, Aufnahme in 70 ml

Wasser, Behandeln mit 1 g Aktivkohle und Auffüllen auf 100 ml in Form einer glucosehaltigen Thiaminlösung zurückgewonnen; diese wird unter Berücksichtigung des Glucosegehaltes einem weiteren Coliansatz zugegeben (2. Ansatz: 131 mg  $^{35}\text{S}$ -Thiaminbromid-hydrobromid, 22,2 mc. 3. Ansatz: 83,5 mg, 14 mc).

Je 0,5 ml der Bakteriensuspension werden 10 bis 13 Wistar-Ratten von 100 g Körpergewicht nach Laparotomie in verschiedene Abschnitte des Darmes injiziert. 8 Std. danach werden die Tiere getötet und aus Faeces, Darminhalt, Leber und Nieren das Vitamin  $\text{B}_1$  isoliert und dessen Radioaktivität gemessen (7). Bei Kontrollversuchen wird in gleicher Weise vorgegangen; nur werden hier statt der Bakteriensuspension wäßrige Thiaminlösungen (0,9% NaCl) derselben Konzentration und Radioaktivität verabfolgt.

2. Zur Untersuchung der Resorptionsfähigkeit biosynthetisierten Thiamins erhalten insgesamt 16, vier Tage thiaminfrei ernährte Ratten von 100 g Körpergewicht ein- oder zweimalig im Abstand von 12 Std. 0,09 mg  $\text{Na}_2^{35}\text{S}$  (315  $\mu\text{c}$ ) oder 1,6 mg  $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$  (400  $\mu\text{c}$ ) in das Caecum injiziert. Koprophagie wird während des Versuchs durch Anlegen eines Plastikbeutels verhindert (1). In gleicher Weise werden an insgesamt 36, eine Woche alte Rattensäuglinge intracaecal 126  $\mu\text{c}$   $\text{Na}_2^{35}\text{S}$  oder 160  $\mu\text{c}$   $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$  verabfolgt. Zum Nachweis von biosynthetisiertem  $^{35}\text{S}$ -Thiamin im Caecuminhalt und in der Leber wird 12 Std. nach der Applikation folgendermaßen vorgegangen: Blinddarminhalt und Leber (bei den Säuglingen werden jeweils 3 Blinddärme samt Inhalt oder 3 Lebern vereinigt aufgearbeitet) werden in gleicher Weise extrahiert, und die Extrakte werden an 4 Decalso-Säulen ebenso adsorptiv gereinigt wie bei der üblichen Thiaminbestimmung (8). Die Eluate werden vereinigt (200 ml) und mit Isobutanol im Verhältnis 1:1 ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird mit alkalischer Hexacyanoferrat(III)-Lösung oxydiert (1,5 ml 0,2%  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ -Lösung + 28,5 ml 14% NaOH-Lösung/100 ml Eluat) und erneut mit Isobutanol (300 ml) ausgeschüttelt. Anschließend wird die Isobutanolschicht mit 100 ml 0,1 N Salzsäure ausgezogen. Das jetzt im Salzsäureauszug befindliche Thiochrom wird nach Einstellen der Lösung auf  $\text{pH}$  4 – 4,5 (Natriumacetat) in gleicher Weise durch Adsorption an Decalso abgetrennt wie vordem das Thiamin. Die vereinigten Eluate (200 ml) werden alkalisch gemacht (30 ml 3,5 N NaOH) und wiederum mit Isobutanol (300 ml) ausgeschüttelt. Die Isobutanolphase wird mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum der Wasserstrahlpumpe eingedampft. Der Rückstand wird in 20 ml Methanol aufgenommen, filtriert und erneut eingedampft. Der schließlich verbleibende Rückstand wird in 0,5 ml Methanol gelöst und auf Whatman-Nr. 1-Papier aufgetragen. Chromatographiert wird absteigend mit n-Propanol:Wasser:M Acetatpuffer ( $\text{pH}$  5) = 7:2:1 (30) und 12 Std. Laufzeit. Der im UV-Licht sichtbare Thiochromfleck wird ausgeschnitten, mit 8 ml Methanol eluiert, im Vakuum zur Trockene eingedampft, in 0,5 ml Methanol aufgenommen und ein zweites

Tabelle 1

Die Bestandteile der im vierwöchigen Ernährungsversuch täglich verzehrten Grundkost

| Frühstück          | Mittagessen         | Abendessen         |
|--------------------|---------------------|--------------------|
| 160 g Magermilch   | 100 g Rinderfilet   | 100 g Mischbrot    |
| 100 g Mischbrot    | 5 g Pflanzenöl      | 10 g Butter        |
| 20 g Butter        | 100 g Möhren        | 30 g Leberwurst    |
| 30 g Schinken      | 300 g Kartoffeln    | 25 g Käse          |
| 50 g Quark         | 6 g Margarine       | 150 g grüne Bohnen |
| 125 g Äpfel        | 6 g Weizenmehl      | 10 g Zwiebeln      |
| 10 g Maisstärke    | 10 g Zwiebeln       | 3 g Pflanzenöl     |
| 7 g Zucker         | 160 g Magermilch    | 200 g Apfelsaft    |
| 20 g Brombeersirup | 10 g Maisstärke     | 160 g Magermilch   |
|                    | 7 g Zucker          | 10 g Maisstärke    |
|                    | 100 g Kirschkompott | 7 g Zucker         |
|                    |                     | 20 g Brombeersirup |

Mal chromatographiert. Zur besseren Lokalisierung des Thiochromfleckes werden jetzt 0,5  $\mu$ g nicht markiertes Thiochrom zugesetzt. Die Chromatographie wird noch ein drittes Mal vorgenommen, ehe das Papierchromatogramm mit einem Methan-Durchflußzähler radiometrisch ausgewertet und an der Radioaktivität des Thiochromfleckes biosynthetisiertes Thiamin erkannt wird.

3. Fünf gesunde Männer im Alter von 28 bis 45 Jahren und eine weibliche Versuchsperson im Alter von 30 Jahren erhalten 27 Tage lang eine in der Zusammensetzung gleichbleibende und nur in der Art der Zubereitung des Mittag- und Abendessens etwas wechselnde Mischkost (Tab. 1). Der tägliche Nahrungsverzehr entspricht einem Energieäquivalent von 2500 kcal (15 Cal% Eiweiß, 26 Cal% Fett und 59 Cal% Kohlenhydrate). Das Vitaminangebot (berechnet) beträgt etwa 1800 IE Vitamin A, 8500 IE Carotin, 1,4 mg Thiamin, 2,8 mg Riboflavin, 15 mg Nikotinsäure, 7,8 mg Pantothenensäure, 40  $\mu$ g Biotin und 50 mg Vitamin C/Tag. Vom 10. bis 16. Versuchstag werden täglich pro Person zusätzlich 28 g Zellulose verzehrt; diese setzt sich aus 10 g Quellzellulose, die 5%ig in Brot eingebacken wird, und 18 g Zellstoff zusammen, der in einer Schwingmühle feinermahlen, abgesiebt und in einer Menge von etwa 3,5% in Stärkepudding untergebracht ist. Vom 17. bis 19. Versuchstag wird die Zellstoffmenge verdoppelt, so daß täglich 46 g Zellulose aufgenommen werden. Vom 5. Versuchstag an werden die 24-Std.-Harne gesammelt und darin Thiamin (8), Riboflavin (9), N<sub>1</sub>-Methylnikotinsäureamid (10, 20), N<sub>1</sub>-Methyl-2-pyridon-5-carbonsäureamid (11), Nikotinsäure, Pantothenensäure und Biotin (16) bestimmt.

### Ergebnisse

1. In der Tab. 2 sind die nach Einbringen der mit <sup>35</sup>S-Thiamin angereicherten Colibakterien in verschiedene Darmabschnitte der Ratte resorbierten (nicht in Darminhalt und Faeces verbliebenen) sowie die in der Leber und Niere inkorporierten Vitamin-B<sub>1</sub>-Mengen in Prozent der verabfolgten Dosis aufgeführt. Danach bestehen bei intraduodenaler Applikation in der Resorption des Vitamin B<sub>1</sub> aus Bakterien und reinen Lösungen nur geringe Unterschiede. Im Dünndarm wird das Vitamin offensichtlich aus den Bakterienzellen freigesetzt und gut resorbiert. In Caecum und Colon hingegen läßt sich zwar eine Resorption des von den Bakterien gebundenen Vitamins noch nachweisen, die

Tabelle 2

Die Resorption von <sup>35</sup>S-Thiamin aus Suspensionen von E.coli in physiologischer Kochsalzlösung, die in verschiedene Abschnitte des Rattendarmes eingebracht worden sind.

(N = Zahl der Versuchstiere,  $\bar{x}$  = Mittelwert, s = Standardabweichung)

| Applikation    |           | % resorbiert |            | % der appl. Dosis in der Leber |            | % der appl. Dosis in den Nieren |             |
|----------------|-----------|--------------|------------|--------------------------------|------------|---------------------------------|-------------|
|                |           | reine Lösung | Coll       | reine Lösung                   | Coll       | reine Lösung                    | Coll        |
| 27,5 $\mu$ g   | N         | 17           | 13         | 17                             | 13         | 17                              | 13          |
| ( 4,6 $\mu$ c) | $\bar{x}$ | 98,5         | 95,0**     | 25,6                           | 20,7**     | 13,7                            | 11,9**      |
| intraduodenal  | s         | $\pm$ 0,94   | $\pm$ 1,87 | $\pm$ 3,3                      | $\pm$ 2,32 | $\pm$ 1,56                      | $\pm$ 1,39  |
| 21,5 $\mu$ g   | N         | 14           | 11         | 14                             | 11         | 14                              | 11          |
| ( 3,6 $\mu$ c) | $\bar{x}$ | 40,2         | 14,3**     | 2,3                            | 0,15**     | 0,27                            | 0,03**      |
| intracaecal    | s         | $\pm$ 13,7   | $\pm$ 6,15 | $\pm$ 0,92                     | $\pm$ 0,08 | $\pm$ 0,048                     | $\pm$ 0,017 |
| 46,0 $\mu$ g   | N         | 15           | 10         | 15                             | 10         | 15                              | 10          |
| ( 7,7 $\mu$ c) | $\bar{x}$ | 51,2         | 36,9**     | 6,9                            | 2,3**      | 0,54                            | 0,24**      |
| intracolonal   | s         | $\pm$ 14,4   | $\pm$ 5,11 | $\pm$ 2,24                     | $\pm$ 0,07 | $\pm$ 0,16                      | $\pm$ 0,1   |

\*\*) Signifikant, p < 0,01

Leber- und Niereninkorporation ist aber um ein Vielfaches geringer, als wenn wäßrige Lösungen des Vitamins verabfolgt werden. Es fällt auf, daß bei intracoloner Applikation wesentlich weniger Thiamin im Darm verbleibt und mehr in Leber und Nieren eingebaut wird als bei intracaecaler Verabreichung. Ob die Ursache dafür eine bessere Resorption, eine geringere bakterielle Zerstörung oder ein geringerer bakterieller Verbrauch im Colon ist, kann auf Grund des angestellten Versuches nicht entschieden werden.

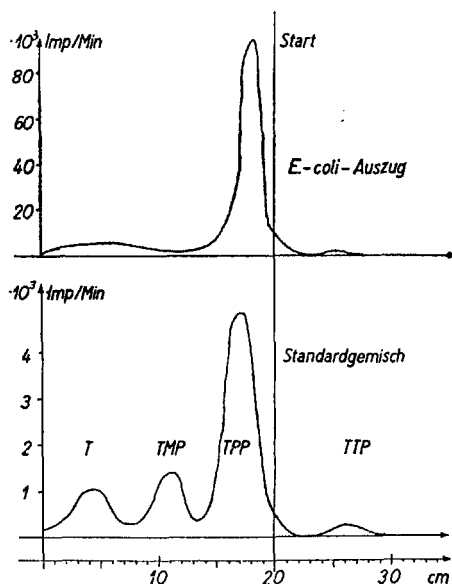


Abb. 1. Elektropherogramm (radiometrische Auswertung) eines Salzsäureauszuges mit  $^{35}\text{S}$ -Thiamin angereicherter Colibakterien und eines Standardgemisches (T = Thiamin, TMP = Thiaminmonophosphorsäureester, TPP = Thiaminpyrophosphorsäureester, TTP = Thiamintriphosphorsäureester)

In Anlehnung an die Arbeitsweise von ROSSI-FANELLI (28) durchgeführte elektrophoretische Untersuchungen der durch Extraktion mit 0,01 n Salzsäure (10 min,  $100^\circ\text{C}$ ) gewonnenen Auszüge haben gezeigt, daß das Vitamin  $\text{B}_1$  in den Bakterien zu etwa 90% als Diphosphorsäureester vorliegt. In der Abb. 1 ist ein entsprechendes Elektropherogramm zusammen mit dem eines Gemisches von Thiamin und dessen Mono-, Di- und Triphosphorsäureester dargestellt. Nach Zentrifugieren der Bakteriensuspensionen werden in der überstehenden Lösung vom Gesamtthiamin nur etwa 0,6 bis 3% gefunden und zwar ausschließlich in Form des freien Thiamins. Beim Erwärmen aliquoter Teile einer insgesamt 0,61 mg  $^{35}\text{S}$ -Thiamin enthaltenden Bakteriensuspension auf 20, 40, 60 und  $100^\circ\text{C}$  sind nach Filtrieren über eine G-5-Fritte und Phosphatasebehandlung in der angegebenen Versuchsfolge im bakterienfreien Filtrat 0,6; 1,8; 50,4 und 44,5% des Thiamins gefunden worden.

2. Nach Verabfolgung von  $^{35}\text{S}$ -Sulfid oder  $^{35}\text{S}$ -Sulfat haben wir bei 12 von den 16 behandelten 100-g-Ratten im Caecuminhalt biosynthetisiertes  $^{35}\text{S}$ -Thiamin festgestellt. In der Leber hingegen haben wir nur in 2 Fällen radio-

aktives Vitamin B<sub>1</sub> gefunden. Als Beispiel zeigt die Abb. 2 die radiometrische Auswertung eines Leber-Papierchromatogrammes. Bei der Aufarbeitung von insgesamt 12 × 3 Rattensäuglingen ist nur einmal im Blinddarm biosynthetisiertes Thiamin identifiziert worden. Hier hat sich eine Resorption von markiertem Vitamin B<sub>1</sub> in keinem Falle nachweisen lassen.

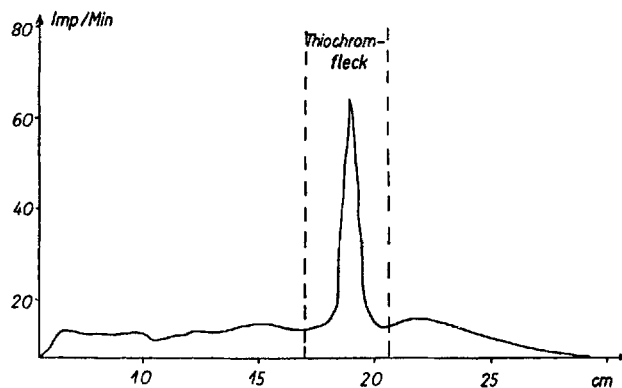


Abb. 2. Papierchromatographischer Nachweis (radiometrische Auswertung) von <sup>35</sup>S-Thiamin in der Leber einer Ratte 12 Std. nach intracaecaler Verabfolgung von Na<sub>2</sub><sup>35</sup>SO<sub>4</sub> (Arbeitsweise im Text)

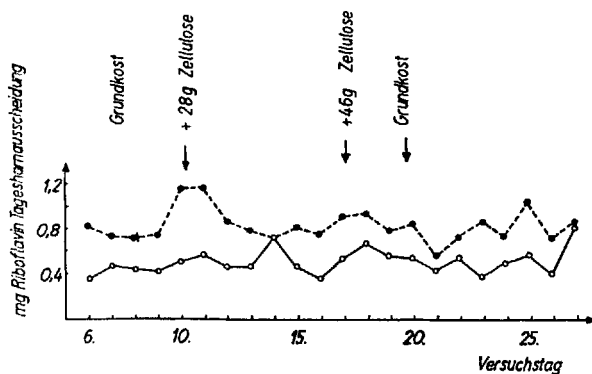


Abb. 3. Die tägliche Riboflavinausscheidung im Harn zweier Versuchspersonen während eines vierwöchigen Ernährungsversuchs mit gleichbleibender Grundkost und zeitweisem zusätzlichem Zelluloseverzehr

3. Im Ernährungsversuch wird nach Zelluloseverzehr eine generelle Erhöhung der Vitaminausscheidung mit dem Harn nicht beobachtet. Aus der Tab. 3 ist ersichtlich, daß mit dem Harn von den untersuchten Vitaminen und Vitaminmetaboliten vor, während und nach der Zelluloseperiode annähernd gleiche Mengen ausgeschieden werden. Eine Ausnahme bildet die Biotinausscheidung; diese geht unter dem Einfluß der zellulosereichen Nahrung merkwürdigerweise signifikant zurück. Wie in Abb. 3 an der Riboflavinausscheidung zweier Versuchspersonen gezeigt wird, bestehen sowohl in der Höhe der Ausscheidung als auch in der Streuung der Einzelwerte ausgeprägte individuelle Unterschiede. Abb. 4 weist auf einige Besonderheiten in der Thiaminausschei-

dung hin; bei der weiblichen Versuchsperson (B) steigt diese am Beginn der Zelluloseperiode und nach Erhöhung des täglichen Zelluloseangebots von 28

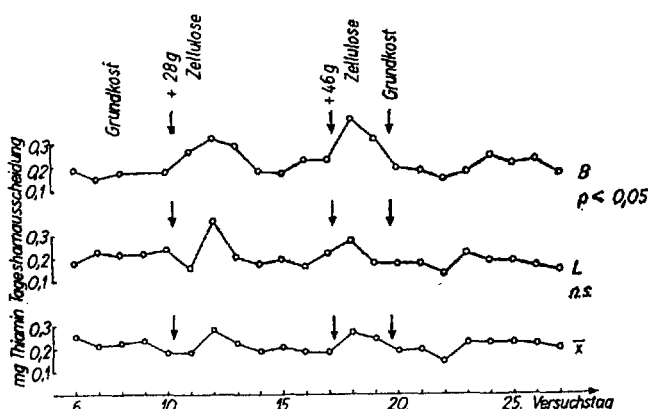


Abb. 4. Die mittlere (tägliches Gesamtmittel  $\bar{x}$ ) sowie die tägliche Thiaminausscheidung im Harn zweier Versuchspersonen (B. und L.) während eines vierwöchigen Ernährungsversuchs mit gleichbleibender Grundkost und zeitweiligem zusätzlichem Zelluloseverzehr ( $p$  = Irrtumswahrscheinlichkeit, n. s. = nicht signifikante Erhöhung)

Tabelle 3

Die tägliche Ausscheidung verschiedener Vitamine und Vitaminmetaboliten mit dem Harn während eines vierwöchigen Ernährungsversuchs mit gleichbleibender Grundkost und zeitweiligem zusätzlichem Zelluloseverzehr. ( $\bar{x}$  = Mittel der mittleren Ausscheidung von 6 Versuchspersonen über 10 bzw. 7 Tage,  $s$  = Standardabweichung der mittleren Ausscheidung)

| Tagesharnausscheidung   | Vorperiode<br>(10 Tage Grundkost) |       |       | Zellulose-Periode<br>(7 Tage Grundkost +<br>28 g Zellulose,<br>3 Tage Grundkost +<br>46 g Zellulose) |       |        | Nachperiode<br>(7 Tage Grundkost) |       |      |
|---|-----------------------------------|-------|-------|--|-------|--------|-----------------------------------|-------|------|
|   | $\bar{x}$                         | $\pm$ | $s$   | $\bar{x}$  | $\pm$ | $s$    | $\bar{x}$                         | $\pm$ | $s$  |
| Harnmenge (ml)  | 1071                              | $\pm$ | 127   | 995  | $\pm$ | 162    | 1016                              | $\pm$ | 100  |
| Thiamin (mg)  | 0,23                              | $\pm$ | 0,03  | 0,22   | $\pm$ | 0,04   | 0,21                              | $\pm$ | 0,03 |
| Riboflavin (mg)   | 0,75                              | $\pm$ | 0,13  | 0,69   | $\pm$ | 0,08   | 0,71                              | $\pm$ | 0,13 |
| Pantothensäure (mg)   | 3,50                              | $\pm$ | 0,24  | 3,50   | $\pm$ | 0,37   | 3,50                              | $\pm$ | 0,18 |
| Biotin ( $\mu$ g)   | 24,80                             | $\pm$ | 6,40  | 17,40  | $\pm$ | 5,90** | 18,00**                           | $\pm$ | 3,20 |
| Nikotinsäure (amid) ( $\mu$ Mol)                                | 4,55                              | $\pm$ | 0,96  | 4,34   | $\pm$ | 0,74   | 4,50                              | $\pm$ | 0,75 |
| N <sub>1</sub> -Methylnikotinsäureamid ( $\mu$ Mol)             | 37,33                             | $\pm$ | 10,00 | 43,72  | $\pm$ | 7,30   | 44,87                             | $\pm$ | 6,26 |
| N <sub>1</sub> -Methyl-2-pyridon-5-karbonsäureamid ( $\mu$ Mol) | 76,88                             | $\pm$ | 9,05  | 69,38  | $\pm$ | 8,09   | 76,38                             | $\pm$ | 8,31 |
| Gesamtnikotinsäureäquivalente ( $\mu$ Mol)                      | 118,76                            | $\pm$ | 8,40  | 117,44   | $\pm$ | 10,92  | 125,75                            | $\pm$ | 8,17 |

\*\*)  $p < 0,05$

auf 46 g signifikant an. Bei zwei weiteren Versuchspersonen treten ähnliche Zunahmen auf (z.B. Person L. in Abb.4). Dort sind sie aber von so kurzer Dauer, daß sich die Zellulosekost im Gesamtmittel aller Probanden nicht signifikant auswirkt ( $\bar{x}$  Abb.4).

Unter dem Einfluß der zusätzlich verzehrten Zellulose nimmt die Faecesmenge im erheblichen Maße zu. Außerdem wird die Peristaltik gefördert, ohne daß jedoch Durchfälle auftreten.

### Besprechung der Ergebnisse

Versuche an keimfreien Tieren und koprophagiegehinderten Ratten (1-4, 6, 12, 23, 31-33) haben in jüngster Zeit vielfach Zweifel an der verbreiteten Auffassung aufkommen lassen, daß die intestinale Biosynthese zur Vitaminversorgung des Makroorganismus beiträgt. Der Einwand, daß bei Koprophagieverhinderung eine für die Steigerung der Vitaminsynthese z.B. durch schwer resorbierbare Kohlenhydrate unerläßliche Floraumstellung nicht mehr stattfinden kann (18), ist experimentell nicht begründet. An Hammeln und Schafen erhobene Befunde (19) sind nicht stichhaltig, weil hier vornehmlich der Pansen Ort der Vitaminbildung ist und, wie unser Coli-Versuch zeigt, die an Bakterien gebundenen Vitamine im proximalen Teil des Verdauungstrakts weitaus besser verwertet werden können als im distalen. Unser Ernährungsversuch mit zellulosereicher Kost hat schließlich einen grundsätzlichen Hinweis auf die Ausnutzbarkeit der mikrobiell im menschlichen Darm gebildeten Vitamine nicht erbracht. In gleicher Weise haben auch PEPLER und Mitarb. (27) beim Menschen die Vitaminversorgung durch Sorbitgaben nicht verbessern können.

Im Gegensatz dazu scheinen die anfangs erwähnten Befunde von FUJITA und Mitarb. (25, 26, 34, 35) sowie die Beobachtung von DŽELIEVA (5), daß bei Rhesusaffen nach zellulosereicher Kost die Folsäureausscheidung im Harn ansteigt, der intestinalen Vitaminsynthese eine ernährungsphysiologische Bedeutung zuzusprechen. In gleichem Sinne argumentiert auch HOLLMANN (18), der beim Menschen durch vierwöchige orale Verabfolgung von Sorbit zwar nicht die Vitamin-B<sub>6</sub>- und Pantothensäure- wohl aber die Vitamin-B<sub>1</sub>-Ausscheidung mit dem Harn hat steigern können.

Der scheinbare Widerspruch in der Aussage ähnlich angelegter Versuche zeigt jedoch nur, daß der Gesamtstoffwechsel vergleichbarer Mikrobiozöten individuelle Züge tragen kann und wandlungsfähig ist. Dem entspricht, daß ein und dieselbe Bakterienart milieuhabhängig Vitamine bilden oder verbrauchen kann (17). Daß im Darm gebildete Vitamine in den Stoffwechsel des Makroorganismus übergehen können, haben auch unsere Versuche erkennen lassen. Die Regel ist das aber keineswegs; denn lediglich bei einer von 5 Versuchspersonen und einem von 5 untersuchten Vitaminen (Thiamin) hat sich nach Stimulierung der intestinalen Vitaminsynthese durch Zelluloseverzehr ein solcher Übergang nachweisen lassen.

Nach WOSTMANN (33) werden im Rattendarm täglich etwa 6 bis 10  $\mu$ g Thiamin gebildet. Der Tab.2 kann man entnehmen, daß 8 Std. nach Applikation von <sup>35</sup>S-Thiamin in das Caecum und Colon 2-7% der verabfolgten Dosis in der Leber wiedergefunden worden sind. Bei voller Verwertbarkeit der intestinalen Tagesproduktion kann man demnach eine Leberinkorporation von

etwa 0,12 bis 0,7  $\mu\text{g}$  erwarten. Die spezifische Radioaktivität des Thiamins im Caecuminhalt hat etwa 800 Imp/min/ $\mu\text{g}$  betragen. Eine Prüfung der Nachweismempfindlichkeit hat ergeben, daß mit dem angewandten Verfahren von Thiamin dieser Radioaktivität in der Leber noch 0,1  $\mu\text{g}$  einwandfrei erfaßt werden können. Eine Resorption des mikrobiell gebildeten  $^{35}\text{S}$ -Thiamins haben wir auf Grund der Inkorporation in die Leber jedoch nur bei 2 von 12 Ratten mit angemessener Sicherheit festgestellt. ROZANOV (29) hat aus dem  $^{35}\text{S}$ -Thiamingehalt des Rattenharns nach oraler Verabfolgung von 1 mg  $^{35}\text{S}$ -Methionin ebenfalls auf eine sehr geringe Ausnutzbarkeit des im Darm gebildeten Thiamins geschlossen, während WOSTMANN (31, 32, 33) bei seinen Versuchen in keinem Falle eine Resorption von biosynthetisiertem  $^{35}\text{S}$ -Thiamin beobachtet hat. Offensichtlich ist derartige Vitamin  $\text{B}_1$  nicht genügend resorptionsfähig. Ursache dafür ist außer der Resorptionskapazität, die gegenüber dem proximalen im distalen Teil des Darmtraktes herabgesetzt ist (8, 21), vor allem die Zustandsform des Vitamins. Selbst bei der in-vitro-Anreicherung hat sich gezeigt, daß das Vitamin  $\text{B}_1$  nicht einfach an die Colioberfläche adsorbiert sondern vornehmlich in der Bakterienzelle fixiert ist und über den Pyrophosphorsäureester in einer Verbindung vorliegt, aus der es in größerem Maße nur durch Hitze- oder Säurebehandlung freigelegt und durch Dünndarmverdauung resorbiert werden kann. Ähnliche Feststellungen haben WOSTMANN u. Mitarb. (31, 32) für Thiamin des Caecalinhalt getroffen.

Möglicherweise treffen die für das Vitamin  $\text{B}_1$  geltenden Eigentümlichkeiten nicht für alle Vitamine zu. DAFT (4) hat z. B. in neueren Versuchen für intestinal gebildete Folsäure den Nachweis der Verwertung durch die Ratte erbracht, wohingegen Pantothersäure wie in früheren Untersuchungen (3) nicht resorbiert worden ist. Aus unseren Versuchen und dem vorliegenden Schrifttum geht jedoch hervor, daß eine vermehrte Intestinalsynthese nicht generell einem vermehrten Vitaminangebot gleichgesetzt werden kann. Maßnahmen, den mikrobiellen Stoffwechsel im Darm mit Hilfe bestimmter Nahrungszusätze [Sorbit, Zellulose, Antibiotica (13), bifidogene Kost (22)] in Hinsicht auf eine bessere Vitaminversorgung des Makroorganismus gezielt zu beeinflussen, bieten demnach keine Gewähr für ihre Wirksamkeit.

Das ist besonders für den Säugling bedeutungsvoll, denn von ihm wird vielfach angenommen, daß er bei einigen Vitaminen im Falle künstlicher Ernährung einen beträchtlichen Teil seines Bedarfs aus der gegenüber Erwachsenen gesteigerten enteralen Synthese deckt. Bei kritischer Einschätzung unseres Versuchs mit Rattensäuglingen und bisher vorliegender experimenteller Befunde muß jedoch auch die generelle Versorgung des Säuglings mit B-Vitaminen und Vitamin K durch die Darmflora in Zweifel gezogen werden (14).

Fräulein Dipl.-Biol. R. MÜLLER, Herrn Dipl.-Math. V. ERHARDT und Herrn Küchenmeister H. WEIBELZAHN danken wir für ihre aktive Mitarbeit.

### *Zusammenfassung*

In Untersuchungen über die Resorptionskapazität verschiedener Darmabschnitte der Ratte für in Colibakterien gebundenes und wäßrig gelöstes  $^{35}\text{S}$ -Thiamin gleicher Menge und Radioaktivität wird an der Leber- und Niereninkorporation gezeigt, daß in Colibakterien gebundenes Thiamin im Dünndarm weitgehend resorbiert wird. Im Caecum und Colon hingegen wird das Bakterienthiamin in wesentlich geringerem Maße verwertet als das in wäßriger Lösung vorliegende.



Nach intracaecaler Verabfolgung von  $\text{Na}_2^{35}\text{S}$  oder  $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$  ist bei 12 von 16 koprophagiegehinderten Ratten im Blinddarminhalt und nur bei 2 in der Leber biosynthetisiertes  $^{35}\text{S}$ -Thiamin nachgewiesen worden. Bei ähnlich behandelten insgesamt 36, eine Woche alten Rattensäuglingen ist in keinem Fall eine Resorption von  $^{35}\text{S}$ -Thiamin festgestellt worden.

In einem 27 Tage dauernden Ernährungsversuch haben 5 Männer und eine Frau mittleren Alters eine in der Zusammensetzung gleichbleibende adäquate Mischkost mit zeitweiligen Zellulosezulagen erhalten. Von 5 untersuchten B-Vitaminen sind unter dem Einfluß des zusätzlichen Zelluloseverzehr, insgesamt gesehen, signifikante Änderungen der täglichen renalen Ausscheidung nicht beobachtet worden.

Aus den Versuchsergebnissen und den im Schrifttum vorliegenden Befunden anderer Autoren wird geschlossen, daß die Ausnutzbarkeit enteral synthetisierter Vitamine im allgemeinen zu gering ist, als daß sie für die Versorgung des Makroorganismus eine Rolle spielen könnten. Die Wirksamkeit von Nahrungszusätzen, die den mikrobiellen Stoffwechsel im Darm in Hinsicht auf eine bessere Vitaminversorgung des Makroorganismus beeinflussen sollen, ist nicht gewährleistet.

### Schrifttum

1. BARNES, R. H. and G. FIALA, J. Nutrit. **65**, 103 (1958), **68**, 603 (1959). — 2. BARNES R. H., E. KWONG, K. DELANY, and G. FIALA, J. Nutrit. **71**, 149 (1960). — 3. DAFT, F. S., 5. Internat. Congress Nutrit., p. 13 (Washington 1960). — 4. DAFT, F. S., E. G. MCDANIEL, L. G. HERMAN, M. K. POMINE, and J. R. HEGNER, Federat. Proc. **22**, 129 (1963). — 5. DŽELIEVA, Z. N. u. A. V. TRUFANOV, Woprossy Pitaniya [russ.] **22**, 57 (1963). — 6. FREINCKEL, N. and R. M. C. DAWSON, Biochem. J. **81**, 250 (1961). — 7. GASSMANN, B. und H.-A. KETZ, Biochem. Z. **334**, 245 (1961). — 8. GASSMANN, B., Nahrung **4**, 140 (1960). — 9. GASSMANN, B., Ernährungsforschung **3**, 400 (1958). — 10. GASSMANN, B. u. A. SCHEUNERT, Pharmazie **13**, 515 (1958). — 11. GASSMANN, B. u. A. SCHEUNERT, Int. Z. Vitaminforsch. **28**, 421 (1958). — 12. GASSMANN, B., H.-A. KETZ u. H. HAENEL, Nahrung **7**, 9 (1963). — 13. GASSMANN, B., H.-A. KETZ u. H. HAENEL, Z. Tierphysiol., Tierernähr., Futtermittelkunde **17**, 212 (1962). — 14. GASSMANN, B., H. HAENEL u. H. PLESSING, Pädiatrie und Grenzgebiete (z. Zt. im Druck). — 15. HAENEL, H., Ernährungsforschung **6**, 257 (1961). — 16. HAENEL, H., Nahrung **4**, 116 (1960). — 17. HAENEL, H. u. B. SEMRAU, Ernährungsforschung **4**, 337 (1959). — 18. HOLLMANN, S., Stärke **15**, 208 (1963). — 19. HOLLMANN, S., U. HERLYN u. H. J. LANTZSCH, Z. Tierphysiol., Tierernähr., Futtermittelkunde **17**, 132 (1962). — 20. HOLT, C. u. H. C. HEINRICH, In SCHWIEGK H. u. F. TURBA, Künstliche radioaktive Isotope in Physiologie, Diagnostik und Therapie, Bd. I, S. 660 (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961). — 21. KASPER, H. u. D. HÖTZEL, Z. Ernährungswiss. **4**, 34 (1963). — 22. LIEBSCHER, S., Z. Kinderheilkunde **85**, 265 (1961). — 23. MORGAN, T. B. and J. YUDKIN, Nature [London] **184**, 909 (1959). — 24. MÜLLER, R., International conference on vitamins, Reports and Communications, S. 421 (Sofia 1962). — 25. NAGASE, H. and A. FUJITA, J. Vitaminol. **2**, 102 107 (1956). — 26. NAGAYAMA, K. and A. FUJITA, J. Vitaminol. **3**, 24 (1957). — 27. PEPPLER, E., B. MÜLLER, and H. D. CREMER, J. Nutrit. **74**, 103 (1962). — 28. ROSSI-FANELLI, S., B. MONDOVI u. V. BOFFI, Boll. Soc. ital. Biol. sperim. **29**, 1330 (1953). — 29. ROZANOV, A. JA., Woprossy Pitaniya [russ.] **20**, 55 (1961). — 30. SILIPRANDI, D. and N. SILIPRANDI, Biochim. Biophys. Acta **14**, 52 (1954). — 31. WOSTMANN, B. S. and P. L. KNIGHT, J. Nutrit. **74**, 103 (1961). — 32. WOSTMANN, B. S., P. L. KNIGHT, and D. F. KAN, Ann. N. Y. Acad. Sci. **98**, 516 (1962). — 33. WOSTMANN, B. S., P. L. KNIGHT, L. L. KEELEY, and D. F. KAN, Federat. Proc. **22**, 120 (1963). — 34. YAMOGUCHI, T., M. YANO, and A. FUJITA, J. Vitaminol. **5**, 88 (1959). — 35. YANO, M. and A. FUJITA, J. Vitaminol. **2**, 209 (1956), **4**, 81 (1959).

Anschrift der Verfasser:

Dr. B. GASSMANN, Dr. habil. H. HAENEL, Prof. Dr. H.-A. KETZ und Dr. M. ZOBEL,  
Potsdam-Rehbrücke, Arthur-Scheunert-Allee 155