



Over opname, verbruik en uitscheiding van vitamine C door de mens

<https://hdl.handle.net/1874/322330>

Aug. 191, 1936

OVER OPNAME, VERBRUIK EN
UITSCHIEDING VAN VITAMINE C
DOOR DE MENS

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

M. VAN EEKELEN

OVER OPNAME, VERBRUIK EN UITSCHIEDING
VAN VITAMINE C DOOR DE MENS

43

A - gw 192 1936

OVER OPNAME, VERBRUIK EN UITSCHIEDING VAN VITAMINE C DOOR DE MENS

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD
VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE
AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
DR. C. W. VOLLGRAFF, HOOGLERAAR IN DE
FACULTEIT DER LETTEREN EN WIJSBEGEERTE,
VOLGENS BESLUIT VAN DE SENAAT DER UNI-
VERSITEIT IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN
OP MAANDAG 27 JANUARI 1936,
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

MARIE VAN EEKELEN

GEBOREN TE ZALTBOMMEL

1936

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

Aan de nagedachtenis van mijn Vader
Aan mijn Moeder
Aan mijn Vrouw en Kinderen

Het verschijnen van dit proefschrift geeft mij de welkome gelegenheid, U, Hoogleraren en Lectoren in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde, hartelijk dank te zeggen voor hetgeen Gij tot mijn wetenschappelijke vorming hebt bijgedragen.

Hooggeleerde JORDAN, ik beschouw het als een groot voorrecht tot Uw leerlingen te behoren. Nu ik in mijn tegenwoordige werkkring met problemen der physiologie van de mens in aanraking kom, blijkt mij hoezeer de kennis van de vergelijkende physiologie het inzicht in deze problemen kan verdiepen.

Met eerbied wil ik hier mijn leermeester in de plantenphysiologie wijlen Prof. Dr. F. A. F. C. WENT gedenken.

Hooggeleerde NIERSTRASZ, PULLE, HONING en RUTTEN, aan de tijd, die ik op Uw laboratoria heb mogen werken en aan de excursies, die ik onder Uw leiding heb meegemaakt, zal ik steeds een aangename herinnering behouden.

Hooggeleerde WOLFF, Hooggeachte Promotor, ik acht mij bevoorrecht tot Uw medewerkers te behoren. De bezieling en aanmoediging, die wij steeds van U ondervinden, maakt de arbeid, in de zo aangename sfeer van Uw laboratorium, tot een dagelijks weerkerende vreugde. Ik dank U voor het vele, dat ik van U heb mogen leren en ben U zeer erkentelijk, dat Gij mij in de gelegenheid hebt gesteld op een onderwerp uit de vitaminologie bij U te promoveren.

Waarde EMMERIE, in de zes jaren, die wij reeds samenwerken, heb ik vaak van Uw grote kennis der chemie kunnen profiteren. Ik dank U voor de steun, die Gij mij ook bij de bewerking van dit proefschrift hebt gegeven.

Ook U, Zeergeleerde JULIUS, dank ik voor Uw vriendschap en voor de bereidwilligheid, waarmee Gij mij steeds met raad en daad terzijde hebt gestaan.

Tenslotte een woord van dank aan allen, die verbonden zijn aan het Hygiënisch Laboratorium, voor de hulp mij op velerlei wijze verleend.

INLEIDING

Tot voor kort definiëerde men vitamines als: „organische stoffen van onbekende samenstelling, die, meestal in zeer kleine hoeveelheden, nodig zijn voor de instandhouding van het leven, en die niet door de mens kunnen worden opgebouwd.”

De kennis van deze stoffen is echter in de laatste jaren dermate toegenomen, dat thans van een aantal vitamines de empirische samenstelling, van sommige ook de structuurformule, bekend is. Wat het vitamine C betreft, is men er zelfs in geslaagd het synthetisch te bereiden.

Tevens zijn er chemische en physische methodes uitgewerkt, waarmee men vitamines kan bepalen, zodat men sommige van deze stoffen niet alleen in voedingsmiddelen, maar ook in lichaamsvloeistoffen als bloed en urine, op betrekkelijk eenvoudige wijze quantitatief kan aantonen. Hierdoor wordt de mogelijkheid geopend enig inzicht in de stofwisseling der vitamines te krijgen en een antwoord te geven op de volgende vragen, die ik mij voor het vitamine C gesteld heb:

Hoeveel vitamine C wordt in ons land door de mens dagelijks met zijn voedsel opgenomen? Hoeveel heeft hij per dag nodig? Is de opgenomen hoeveelheid steeds voldoende om het verbruik te dekken? Hoe kan men een tekort aan vitamine C bij de mens aantonen, ook in die gevallen waarbij nog geen uiterlijke tekenen van

scheurbuik, de ziekte die door gebrek aan vitamine C wordt veroorzaakt, worden aangetroffen?

Door het volgend onderzoek zal getracht worden deze vragen te beantwoorden. Eerst zal echter een beknopt overzicht gegeven worden van het optreden van scheurbuik in ons land en van de ontdekking van het vitamine C.

HOOFDSTUK I

OVER HET VOORKOMEN VAN SCHEURBUIK IN NEDERLAND

Scheurbuik is een ziekte, die reeds eeuwen lang in ons land bekend is. Vooral in de 16e, 17e en 18e eeuw kwam zij veel voor, zowel op het land als op de koopvaardischepen tijdens de langdurige zeereizen naar Indië en de Poolstreken. Uit deze tijden dateren dan ook de eerste, vaak uitstekende beschrijvingen van de verschijnselen der ziekte: zwaktegevoel, tandvleesbloedingen, subcutane bloedingen, gezwollen en pijnlijke gewrichten, enz.

Niet alleen kende men toen reeds het ziektebeeld, maar men wist ook waardoor de ziekte ontstond en men had middelen om haar te genezen. Speciaal het optreden van scheurbuik bij schepelingen, die gedurende lange tijd op een eenzijdig diëet van gezouten vlees, erwten, bonen, gort en scheepsbeschuit leefden, was aanleiding in dit diëet de oorzaak voor het ziekworden te zoeken, hoewel daarnaast aan het drinken van bedorven water en aan het klimaat ook een ongunstige invloed werd toegeschreven. De zeelui en scheeps-artsen uit die tijd wisten echter zeer goed, dat door het gebruik van verse groenten en vruchten de scheurbuik kon worden genezen. Bovendien was de geneeskrachtige werking van een aantal antiscorbutica als lepelblad, nasturtium, enz. bekend.

In hoe sterke mate de ziekte vaak woedde, kan men niet alleen lezen in vrijwel elk scheepsjournaal of reisbeschrijving

uit die tijd, maar dit wordt ook geïllustreerd door uitlatingen van andere schrijvers. Zo rijmt bijvoorbeeld de volksdichter Hennebo (± 1720) in zijn „Lof der Jenever”:

De negen Zusteren, geplaatst op Helicon,
Met Scheurbuik fel geplaagd, verwerpen kunstcieraaden
Voor glazen, vol geschept met vocht uit Lepelbladen,
— — — — —

en verder:

De Scheurbuik, die ons Neêrland plaagt,
Wordt mede 't allerbest verjaagd,
Wanneer men Lepelblaën in Vlessen
Zet op den Geest van Mout en Bessen.

Ja, het kwam zelfs voor, dat scheurbuik gesimuleerd werd door vrouwen, die het „gemeenlijk niet mangelt aan listen en sluikerijen”, om „zig, onder dat voorwendsel, den genever op Lepelblad . . . ten nutte te maken”. (le Francq van Berckhey, *Natuurlijke Historie van Holland VI*, 1773, blz. 1510).

Dat er ondanks deze kennis van de geneesmiddelen nog zoveel scheurbuik voorkwam, is wel hierin gelegen, dat het niet mogelijk was verse groenten en vruchten op de schepen mee te nemen en dat op het land deze voedingsmiddelen gedurende winter en voorjaar niet te verkrijgen waren.

Toch heeft het niet aan pogingen ontbroken de schepe-lingen van antiscorbutica te voorzien. Ik wil slechts memoreren het denkbeeld van den koopman-arts Padtbrugge, vriend van Swammerdam, om op de Oost-Indië-vaarders verschillende kruiden in bakken, zijn z.g. „scheepstuities”, te kweken. Dit denkbeeld bracht hij ook in praktijk (tweede helft 17e eeuw), waarbij hij vooral met de „mieredickwortel” (*Cochlearia Armoracia* L.) succes oogstte. De Engelsman James Lind (1) beval speciaal het gebruik van sinaasappels aan. Hij deed dit op grond van zijn beroemd experiment (1747), waarbij hij een aantal scheurbuikpatiënten groepsgewijs, onder inachtneming van gelijke uitwendige omstandigheden, met verschillende, toen ter tijde gangbare antiscorbutica als zeewater,

elixir vitriool, azijn, appelwijn en ook sinaasappels en citroenen, behandelde. Slechts met de laatste twee verkreeg hij een snelle genezing. Ten slotte zij nog vermeld dat Cook op zijn wereldreis (1772—1775) zijn manschappen kon behoeden voor scheurbuik door zo vaak als mogelijk was te landen en zich van verse groenten en vruchten te voorzien. Daarnaast wijst hij op de antiscorbutische werking van zuurkool. (Zie Van Andel: De Scheurbuik als Nederlandsche Volksziekte, Ned. Tijdschrift voor Geneeskunde 1927, II).

In de 19e eeuw ziet men dat de scheurbuik als volksziekte verdwijnt. Dit moet worden toegeschreven aan het toenemend gebruik van het, ook 's winters te verkrijgen, volksvoedsel, tevens antiscorbuticum bij uitnemendheid: de aardappel. Wanneer er dan ook in de 19e en 20ste eeuw nog enkele malen scheurbuik epidemisch voorkomt, dan is dit steeds in tijden van aardappelschaarste (aardappelziekte, oorlogen) of door zeer bijzondere omstandigheden zoals tijdens expedities of bij slecht geregelde voeding in gevangenissen of gestichten.

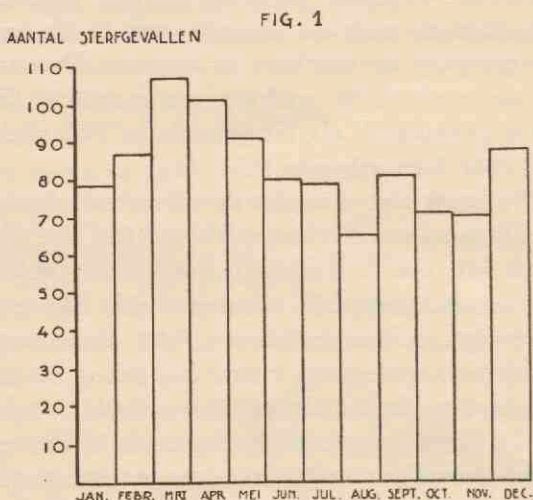
Raadpleegt men de statistiek voor de doodsoorzaken in Nederland voor scheurbuik ¹⁾, dan ziet men ook hieruit dat deze ziekte steeds minder slachtoffers maakt. (Tabel I)

TABEL I

Periode	Aantal sterfgevallen aan scheurbuik
1875—1879	310
1880—1884	300
1885—1889	181
1890—1894	149
1895—1899	57
1925—1929	47
1930—1933	19

¹⁾ Van 1900—1925 kan men de sterfte aan scheurbuik niet uit de statistiek aflezen, aangezien in de nomenclatuur gedurende deze periode scheurbuik samen met morbus maculosus Werlhofii onder één nummer zijn opgenomen. In de nomenclatuur, ingevoerd in 1931, worden scheurbuik en morbus Bar-

Rangschikt men de sterfgevallen uit de periode 1875—1900 volgens de maanden waarin zij voorkomen, dan krijgt men de volgende verdelingskromme (fig. 1).



De top in de maanden Maart—April, hoewel niet sterk uitgesproken, zou men kunnen verklaren door het geringer gebruik van verse groenten en vruchten gedurende deze tijd.

De gevallen van scheurbuik, die thans nog voorkomen, betreffen bijna steeds alleen wonende mannen, die geen lust hebben groenten of aardappels te bereiden en zich vrijwel uitsluitend voeden met brood. Dit blijkt zeer duidelijk uit een veertigtal ziektegeschiedenissen van gevallen van scheurbuik, die in ons land gedurende de jaren 1922—1932 voorgekomen zijn en door Augustijn (2) verzameld werden. Op de 44 patiënten komen slechts 2 vrouwen voor, van de

lowii afzonderlijk opgegeven. Hierbij werden in 1931 twee gevallen onder de rubriek 10—14 resp. 35—39 jarigen, in 1933 een geval onder de rubriek 65—79 jarigen als morbus Barlowii opgegeven. Bij informatie bleken dit gevallen van morbus Basedowii te zijn.

42 mannen waren er 3 gehuwd, 34 ongehuwd, gescheiden of weduwnaar en 5 van onbekende burgerlijke staat. Ook hier ziet men, dat voor verreweg het grootste deel der gevallen de ziekteverschijnselen optraden in het voorjaar n.l. 33 gedurende de maanden Januari tot Juli en 6 van Juli tot Januari (5 onbekend).

Zoals reeds in de noot op blz. 5 opgemerkt werd, moet men bovengenoemde sterftestatistiek met enige reserve beschouwen en wel niet alleen om de daar genoemde reden. Ook andere foutenbronnen kunnen in het spel zijn. Zo zal het aan de ene kant de vraag zijn of de diagnose scheurbuik steeds juist is geweest, anderzijds bestaat de mogelijkheid dat een weinig voorkomende ziekte, zoals scheurbuik de laatste tijd is, door de behandelende geneesheer niet steeds als zodanig herkend zal zijn. Dit laatste blijkt overtuigend uit de geschiedenis van de scheurbuik bij kinderen (morbus Barlowii) in ons land.

In 1883 had Barlow (3) erop gewezen dat de z.g. acute rachitis bij jonge kinderen, die optreedt na een eenzijdige voeding met kindermeel en gekookte koemelk en dus vooral gevonden werd in de beter gesitueerde kringen, waar borstvoeding niet in de mode was, niets te maken heeft met rachitis, maar een typische scheurbuik is, die kan worden genezen door rauw-vleessap, verse melk en sinaasappelsap.

Het was in het begin van 1893 dat De Bruin (4) in een voordracht voor de Geneeskundige Kring te Amsterdam voor het eerst in Nederland over deze infantiele scorbut sprak. Hij ving zijn rede als volgt aan:

„Naar aanleiding van een in mijn practijk voorgekomen geval van morbus Barlowii verzoek ik een oogenblik Uwe aandacht voor deze weliswaar zeldzame, doch uit een klinisch en therapeutisch oogpunt beschouwd, zeer zeker belangrijke ziekte. Ik vraag die vooral daarom, omdat deze ziekte, en door haar zeldzaamheid en door haar stiefmoederlijke behandeling in de gebruikelijke leerboeken over kinderziekten,

den meesten practici wel onbekend zal zijn, terwijl toch haar rationeele behandeling, die natuurlijk zonder juiste diagnose niet mogelijk is, zulke dankbare resultaten oplevert". Verder op zegt hij: „Ofschoon, zoover ik weet, in ons land nog geen gevallen dezer ziekte zijn beschreven, zoo bleek mij toch uit mondelinge mededeelingen van Prof. Pel en Dr. de Ranitz, dat ook hier te lande gevallen waren voorgekomen en dit bijna geheel onder de goeode klasse."

In een ingezonden stuk in hetzelfde tijdschrift naar aanleiding van deze voordracht, meldt Kooperberg (5) uit Leeuwarden dat de Friese doktoren de rachitis acuta „tot de alledaagsche, althans tot de zeer dikwijls voorkomende ziekten in hunne praktijk rekenden" en dat „het scorbutische karakter der ziekte allen steeds bijzonder opgevallen was". „Alle patiënten waren beneden den leeftijd van 2 jaren, behoorden tot den z.g. gegoeden burgerstand en waren met koemelk, althans niet met moedermelk gevoed." Genezing werd vooral verkregen door voeding met moedermelk. Verder merkt hij op dat zijn Friese collega's „voorals nog niet konden besluiten de spijsverteringswerktuigen hunner patiëntjes op zulk een zware proef te stellen als in het door ons aangehaalde artikel van De Bruin met gerustheid en aanmoediging wordt aan de hand gedaan," te weten de volgende therapie (De Bruin, blz. 283):

„Geef het kind geschikt dierlijk en plantaardig voedsel in verschen toestand, ziedaar de geheele therapie. Verban alle kindermeele en melkpraeparaten, geef het kind versche, zoo weinig mogelijk verdunde melk, en deze liefst niet driekwart uur gekookt, doch slechts goed gepasteuriseerd. Vermeng die melk met een fijn gemaakten, goed gaar gekookten aardappel; geef tevens (met wat Malaga- of Tokayer-wijn vermengd) versch uitgeperst vleeschsap, te beginnen met 1 à 2 theelepeltjes daags; verder vruchtensappen, liefst sinaasappelsap, ongeveer 2 à 3 theelepeltjes daags; ook appelmoes en citroen-sap in den vorm van eigengemaakte, gefiltreerde

limonade, zijn zeer geschikt; ook kunt ge, in navolging van Baginsky, met 5—6 theelepeltjes versche biergist daags hetzelfde succes als hij trachten te verkrijgen. Verder 's middags soep van kalfs- of kippenbouillon en, zoo het kind ouder is dan een jaar, daarna nog eenige theelepels tot pap gemaakte en door een zeef geperste groenten (moes van aard-appelen of wortelen, spinazie) met wat melk of room."

Dat de ziekte van Barlow inderdaad in Nederland niet zo zeldzaam was als De Bruin eerst meende, blijkt wel uit het feit, dat hij einde 1893 in staat is 54 gevallen ervan te noemen (6). En van nu af aan worden er een reeks van patiëntjes met infantiele scorbut beschreven of op klinische avonden getoond ¹⁾.

Voor de periode 1901—1922 vermeldt De Bruin 21 gevallen, die in het Binnengasthuis te Amsterdam verpleegd zijn.

Ook in de allerjongste tijd komen er, ondanks de betere inzichten in de kindervoeding, zij het ook sporadisch, nog steeds gevallen van deze ziekte voor. De sterftestatistiek vermeldt voor de jaren 1931, 1932 en 1933 totaal 6 gevallen met dodelijke afloop (gecorrigeerd volgens noot blz. 5), een op onze bevolking wel gering aantal, maar toch altijd nog 6 te veel.

¹⁾ Zie b.v. de mededelingen in het Ned. Tijdschr. voor Geneesk. van: Boåsson 1897 II, 359; Denekamp 1898 II, 368; Denekamp en Hijmans van den Bergh 1899, II, 917; Nolen 1899 I, 617; Ten Siethoff 1899, II, 1049; Van Trooyen 1900, II, 418; De Bruin 1902. I, 712; 1903, II, 911; 1922, II, 1227; De Lange 1902, II, 252; Nicolai 1902, II, 697; Teixeira de Mattos 1904, II, 55; Van Westrienen 1912, I, 2097; Schippers 1921, I, 592.

HOOFDSTUK II

DE ONTDEKKING VAN HET VITAMINE C EN ZIJN CHEMISCHE BEPALING

Hoewel het reeds lang bekend was dat verse groenten en vruchten scheurbuik konden voorkomen of genezen, is de vraag naar wat het werkzame bestanddeel in deze voedingsmiddelen eigenlijk is, pas in het begin van deze eeuw opgekomen, experimenteel bestudeerd en beantwoord.

In navolging van Eykman en Grijns, die door proeven met kippen aangetoond hadden dat beri-beri een deficiëntieziekte is, veroorzaakt door een diët van geslepen rijst, trachtte Axel Holst deze ziekte bij zoogdieren te verwekken. Door caviae met een diët van uitsluitend cerealea te voeden, zagen Holst en zijn medewerker Frölich bij deze dieren echter ziekteverschijnselen optreden, die geen gelijkenis vertoonden met die van beri-beri, maar zeer veel overeenkomst hadden met de symptomen van scheurbuik van de mens, te weten: losse tanden, hyperaemie van het tandvlees, bloedingen, vooral in de kniegewrichten en beenveranderingen. Door verse groenten of waterige extracten ervan aan het diët toe te voegen, konden zij de ziekte voorkómen en genezen (Holst en Frölich (7) (8)). Op grond van deze proeven stelden zij de hypothese op, dat scheurbuik een gevolg is van het ontbreken van een chemisch onbekende stof of stoffen (het latere vitamine C) in de voeding. Deze stoffen zijn aanwezig in verse groenten en vruchten, niet in zaden. Zij ont-

staan pas in de plant tijdens de kieming van het zaad, zoals Fürst (9), in het laboratorium van Holst, kon aantonen.

Pogingen om het vitamine C zuiver af te scheiden hebben lange tijd geen resultaat gehad. Wel werden actieve concentraten verkregen (Zilva, Bezssonoff) en belangrijke eigenschappen ervan ontdekt. De stof bleek zeer gevoelig te zijn voor oxydatie. Holst en Frölich vonden reeds dat plantensappen door staan aan de lucht en door koken hun antiscorbutische werking geheel of gedeeltelijk verliezen. Vooral in alkalisch milieu wordt het vitamine snel geoxydeerd, terwijl zware metalen, speciaal koper, door hun katalytische werking, de oxydatie kunnen versnellen. (Zilva (10), Kellie en Zilva (11)). Zilva (12) vond, dat vitamine-C-concentraten een ammoniakale zilvernitraatoplossing reduceerden. Ook phenolindophenol wordt er door tot zijn leukobase gereduceerd. Zilva vond echter geen correlatie tussen reductievermogen en antiscorbutische werking, zodat volgens hem het reductievermogen niet aan het vitamine zelf moet worden toegeschreven. Het reductievermogen verdween evenals de antiscorbutische werking bij verblijf in alkalisch milieu aan de lucht. Wanneer echter een extract geoxydeerd werd door er phenolindophenol aan toe te voegen, dan bleek de biologische werking onveranderd, wanneer er direct na de oxydatie caviae mee werden gevoerd. Werd evenwel enige uren gewacht, dan was het preparaat niet meer werkzaam. (Zilva (13) (14) (15) (16))

Tillmans en medewerkers (1930) vonden in plantenextracten wel een paralleliteit tussen het vitaminegehalte en het reductievermogen ten opzichte van de oxydatie-reductie-indicator 2,6 dichloorphenol-indophenol. Zij waren in staat met behulp van deze indicator het vitamine C-gehalte van een plantenextract te titreren. Ook zij vonden dat een met de indicator geoxydeerd extract zijn antiscorbutische werking behoudt; het geoxydeerde product kon weer met H_2S gereduceerd worden.

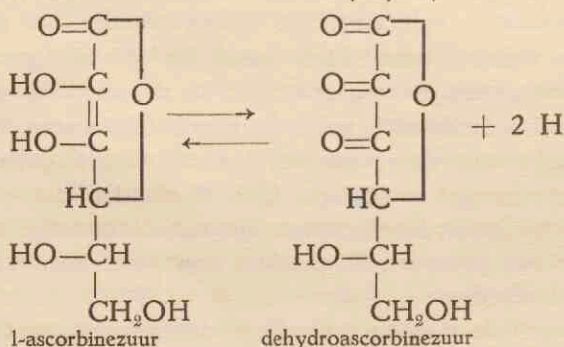
Zij waren de mening toegedaan, dat het vitamine C rever-

sibel te oxyderen is, dat het zowel in gereduceerde als in reversibel geoxydeerde vorm antiscorbutisch werkzaam is, dat echter een irreversibele oxydatie, welke optreedt wanneer men het reversibel geoxydeerde vitamine aan de lucht laat staan, het biologisch onwerkzaam maakt. (Tillmans c.s. (17—23)).

Intussen had Szent-Györgyi (1928) (24) uit de bijniere van het rund, uit koolbladeren en sinaasappelen een stof kristallijn afgezonderd, die de elementaire samenstelling $C_6H_8O_6$ bezat en door hem hexuronzuur genoemd werd. Het was een stof met sterk reducerende eigenschappen en zuur karakter.

De onderzoekingen van Tillmans brachten hem ertoe, te onderzoeken, of het hexuronzuur antiscorbutische werking heeft (Svirbely en Szent-Györgyi (25) (26)). Bij proeven met caviae (1932) bleek, dat een dosis van rond 1 mgr. per dag deze dieren voor scheurbuik kon behoeden. Tillmans c.s. (27) en King en Waugh (28) (29) kwamen vrijwel gelijktijdig tot hetzelfde resultaat. Hiermee was dus de identiteit van hexuronzuur, sindsdien ascorbinezuur genoemd (Szent-Györgyi en Haworth (30)), en vitamine C waarschijnlijk gemaakt. Zonder dat men het wist was dus het vitamine reeds enige jaren kristallijn bekend.

Door het werk van Micheel en Kraft, Karrer c.s., Von Euler en Martius en vooral door Haworth c.s. werd de structuur van het ascorbinezuur opgehelderd. De volgende formule is de meest waarschijnlijke (Herbert c.s., (31)):



Zowel het zure karakter als het reducerend vermogen van het ascorbinezuur zijn toe te schrijven aan de twee enolische OH-groepen.

Tenslotte is wel het mooiste bewijs, zowel voor de structuur als voor de opvatting dat ascorbinezuur identiek is met vitamine C, de synthetische bereiding van het l-ascorbinezuur. Dit is het eerst gelukt aan Reichstein c.s. (32), (33), (34) en ongeveer gelijktijdig aan Haworth c.s. (35).

Bij de dierproef en ook als geneesmiddel voor lijders aan scheurbuik bleek het synthetische vitamine quantitatief dezelfde werkzaamheid te bezitten als het uit planten gewonnen ascorbinezuur.

Wat de specifieke werking ervan in het lichaam betreft, moet men wel in de eerste plaats denken aan het feit, dat het als oxydatie-reductiesysteem kan optreden. Echter is ook de verdere bouw van het molecule typerend; immers blijkt het d-ascorbinezuur bij de dierproef onwerkzaam te zijn, terwijl ook andere zeer verwante verbindingen geen of een geringere biologische werking bezitten.

De chemische bepaling van het ascorbinezuur.

Zoals boven reeds gezegd is, hebben Tillmans c.s. een chemische bepalingsmethode voor het vitamine C beschreven, die bestaat in titratie met 2,6 dichloorphenolindophenol. Deze in neutraal milieu blauwe, in zuur milieu rode kleurstof wordt door het vitamine gereduceerd tot zijn leuko-vorm. Eindpunt van de titratie is dus het zichtbaar blijven van een blauwe, resp. rode kleur.

Het behoeft nauwelijks gezegd te worden dat een dergelijke chemische bepalingsmethode veel eenvoudiger en exacter is dan een langdurige biologische, welke bestaat in het vaststellen van de minimumdosis, die per dag nodig is om scheurbuik bij caviae te voorkomen of te genezen. Bij deze biologische methode is de variatie van de gevoeligheid der

proefdieren voor de te ijken stof steeds een factor, die tot het maken van grote fouten aanleiding kan geven.

Maar toch zijn er aan deze chemische bepalingsmethode ook enige moeilijkheden verbonden, waardoor men een extract van een vitamine-C-houdend weefsel maar niet zonder meer met de indicator kan titreren.

In de eerste plaats kan zich de mogelijkheid voordoen dat in zo'n extract het ascorbinezuur geheel of gedeeltelijk in zijn reversibel-geoxydeerde vorm voorkomt en dus eerst moet worden gereduceerd alvorens men het kan titreren. Tillmans c.s. (18), (21), hebben hierop reeds gewezen en aangetoond, dat het reversibel geoxydeerde vitamine door H_2S gereduceerd kan worden, en dat zulks noodzakelijk is voor de bepaling van het vitamine in verschillende voedingsmiddelen.

Ten tweede is het vermogen om 2,6 dichloorphenolindophenol te reduceren een eigenschap, die niet specifiek is voor ascorbinezuur, maar die alle redoxsystemen bezitten, die eenzelfde of lagere oxydatie-reductiepotentiaal bezitten als het ascorbinezuur, zoals ferro-zouten, glutathion, cysteine en ergothioneine, stoffen, die in extracten van plantaardige of dierlijke weefsels naast ascorbinezuur kunnen voorkomen.

Het is echter mogelijk de invloed van enkele dezer stoffen (ferro-zouten, glutathion) bij de titratie uit te schakelen door deze uit te voeren in zuur milieu ($pH < 2,5$) zoals dit aangegeven werd door Svirbely en Szent-Györgyi (36), Birch c.s. (37), (38), Harris en Ray (39), Wolff c.s. (40), Martius en Von Euler (41). Dit berust op het feit, dat de reactie in zuur milieu met ascorbinezuur zeer snel, met ferro-zouten en glutathion zeer langzaam verloopt. Een in vele opzichten grote verbetering van de methodiek der quantitative bepaling werd gegeven door Emmerie (42), die vond dat uit een mengsel van ascorbinezuur en andere, de indicator reducerende stoffen (glutathion, cysteine en ergothioneine), deze laatste verwijderd kunnen worden door precipitatie in zuur milieu met mercuriacetaat. Bij deze bewerking blijft het ascorbinezuur in

oplossing, wordt echter door het mercuriacetaat reversibel geoxydeerd, zodat reductie met H_2S nodig is om het te kunnen titreren. Bij deze reductie wordt ook het eventueel reeds in het te onderzoeken extract aanwezige reversibel geoxydeerde vitamine gereduceerd en voor de titratie toegankelijk. Verder heeft deze bewerking het voordeel dat troebele of gekleurde extracten er helder en kleurloos door worden, zodat dus ook de bepaling van het vitamine-C-gehalte van vruchten als aardbeien, kersen en groenten als rode kool, rode biet, door titratie mogelijk is. (Emmerie en Van Eekelen (43))

Deze methode is door mij in het volgend onderzoek steeds gebruikt. Een uitvoerige beschrijving er van zal later gegeven worden.

De vraag zal zich nu voordoen of men met deze methode geheel zeker is slechts vitamine C te bepalen en dat alle interfererende stoffen uitgesloten zijn. Hierop moet het antwoord ontkennend luiden. Er kunnen immers steeds in plantaardige of dierlijke weefsels onbekende stoffen voorkomen, die de indicator reduceren en die niet door mercuriacetaat worden geprecipiteerd. Hierop is door Ruyssen en mij (44), reeds gewezen bij een onderzoek van het vitamine-C-gehalte van koffiebonen. Het bleek dat in koolhydraten bevattende voedingsmiddelen, die bij de bereiding droog verhit worden, reducerende stoffen ontstaan (reductonen), welke de indicator in zuur milieu reduceren en niet met kwikacetaat te verwijderen zijn. Hierop moet men dus bij de vitaminebepaling in deze voedingsmiddelen verdacht zijn.

Een mogelijkheid om ook deze soort stoffen te omzeilen, is misschien gelegen in een methode die onlangs door Tauber en Kleiner (45) gepubliceerd is. Deze onderzoekers vonden in de vruchten van *Cucurbita maxima* een oxydase, die specifiek zou zijn voor ascorbinezuur. Door nu een mengsel van ascorbinezuur en andere reducerende stoffen eerst te titreren, vervolgens door toevoeging van de oxydase het ascorbinezuur er in te oxyderen en daarna het mengsel weer

te titreren, waren zij in staat uit het verschil van beide titraties de hoeveelheid ascorbinezuur te berekenen.

Wanneer er echter twijfel bestaat of men in een bepaald geval al of niet met ascorbinezuur te doen heeft, dan zal hier alleen de dierproef een beslissing kunnen geven.

Een methode, door Dewjatnin en Doroschenko (46) beschreven, die, inplaats van met kwikacetaat, andere reducerende stoffen verwijderen door precipitatie met neutraal loodacetaat bij pH 5, mag geen aanwinst heten voor de techniek der ascorbinezuurbepaling. Loodacetaat slaat in neutraal en zuur milieu zuiver ascorbinezuur niet neer. Emmerie (54) toonde echter aan, dat wanneer men ascorbinezuur aan urine toevoegt en dit mengsel in zwak zuur milieu met loodacetaat behandelt, het grootste deel van het ascorbinezuur wél neergeslagen wordt. Bovendien wordt uit een mengsel van ascorbinezuur en cysteine, dit laatste niet door loodacetaat geprecipiteerd. Verder reduceren zij hun extracten niet, waardoor het eventueel aanwezige reversibel geoxydeerde vitamine niet bepaald wordt.

Tenslotte moet vermeld worden, dat er behalve de titratie-methode volgens Tillmans nog een aantal andere chemische reacties, vooral kleurreacties, op ascorbinezuur beschreven zijn. Deze hebben echter alle in meer of mindere mate het bezwaar dat zij minder specifiek zijn dan de methode volgens Tillmans, zoals deze verbeterd is door Emmerie, of dat hun specificiteit niet voldoende bewezen is. Dit geldt b.v. voor de reactie van Bezssonoff met phosphormolybdeen-wolfraamzuur (47), van Karrer c.s. met FeCl_3 (48), van Szent-Györgyi met FeSO_4 (49), van Franken met uranyl-nitraat (50), van Fujita c.s. met wolfraamzuur en NaOH (51), van Szent-Györgyi met AgNO_3 (24), van Martini en Bonsignore met methyleenblauw (52). Een aantal van deze reacties worden in hun beloop door de aanwezigheid van andere stoffen beïnvloed. Dit is b.v. het geval met de reductie van AgNO_3 door het ascorbinezuur.

Met deze reactie meende Szent-Györgyi aangetoond te hebben dat het hexuronzuur (= ascorbinezuur) alleen in de schors van de bijniereen aanwezig is en niet in het merg. Huszak (53) vond echter dat er ook ascorbinezuur voorkomt in het merg, maar dat dit, of een extract ervan, zelfs na toevoeging van een extra hoeveelheid ascorbinezuur, niet in staat is AgNO_3 te reduceren. Emmerie (54) en Svirbely (55) toonden aan dat de reductie van AgNO_3 door ascorbinezuur geremd wordt door glutathion en cysteïne, terwijl De Caro en Giani (56) reeds de beschuttende werking van deze stoffen en van weefselextracten op de auto-oxydatie van het vitamine beschreven hadden. Door deze feiten moet aan de histochemische onderzoekingen met AgNO_3 , die vooral door Franse onderzoekers (Giroud en Leblond) gedaan zijn, een twijfelachtige waarde worden toegekend.

Van de reactie volgens Fujita c.s. met wolframzuur en NaOH , kon ik aantonen, dat deze, behalve door cysteïne en urinezuur ook gegeven wordt door ferro-zouten en dat de blauwe kleur, die ascorbinezuur met dit reagens geeft, niet stabiel is bij aanwezigheid van adrenaline, zodat een bepaling van ascorbinezuur in bijniereen volgens deze methode onmogelijk is. (57)

Een methode die op een geheel ander principe berust is de spectografische. Ascorbinezuur vertoont in neutraal milieu een absorptieband bij $265 \text{ m}\mu$ (Bowden en Snow (58)). In principe is men dus in staat door quantitatieve spectraalanalyse het ascorbinezuurgehalte van een oplossing te bepalen. Hierbij doet zich echter het bezwaar voor dat steeds de mogelijkheid bestaat dat andere stoffen, die in hetzelfde gebied absorberen, kunnen storen. Zo hebben wij (Van Eekelen, Emmerie, Josephy en Wolff (59)) met deze methode het ascorbinezuur in cerebrosпинаalvocht, oogkamervocht en in het glasachtig lichaam van het oog quantitatief kunnen bepalen, waarbij een goede overeenstemming gevonden werd met de door titratie be-

paalde hoeveelheden ascorbinezuur. In bloed en urine lukte een spectografische bepaling niet. Zelfs in ver gezuiverde extracten hiervan waren steeds nog andere stoffen aanwezig, die door hun absorptie in het ultraviolet, een quantitative meting bij $265\text{ m}\mu$ onmogelijk maakten. Ook Plaut c.s. (60) waren in staat in extracten van hersenen, cerebro-spinaalvocht en konijnenserum het ascorbinezuur spectrofotometrisch te bepalen, in serum van de mens evenwel niet.

HOOFDSTUK III

VITAMINE C IN VOEDINGSMIDDELEN. HOEVEEL VITAMINE C WORDT DAGE- LIJKS DOOR DE MENS GEGETEN?

Om een antwoord te kunnen geven op de vraag, hoeveel vitamine C door de mens dagelijks met zijn voedsel wordt genuttigd, is het ten eerste nodig te weten, hoeveel ascorbinezuur in de voedingsmiddelen aanwezig is en ten tweede, hoeveel van deze voedingsmiddelen dagelijks gebruikt worden.

I. Bepaling van het ascorbinezuurgehalte der voedingsmiddelen.

Het is reeds lang bekend dat het gemakkelijk te oxyderen vitamine C tijdens de bereiding der spijsen (fijnhakken, koken, enz.) voor een belangrijk deel er uit kan verdwijnen. De bepaling van het vitamine C-gehalte der voedingsmiddelen moet daarom geschieden, wanneer deze zich bevinden in de toestand waarin ze gegeten worden. Voor het volgend onderzoek werden zij daarom gekookt volgens het Kookboek van de Amsterdamsche huishoudschool (130). Groenten uit blik werden in het erbij aanwezige water opgekookt, waarna dit water, zoals gebruikelijk is, afgegoten werd. De warme spijsen werden in een ijskast snel gekoeld en vervolgens geëxtraheerd. De ascorbinezuurbepaling in vruchten geschiedde alleen in het eetbare gedeelte, dus bijvoorbeeld zonder schil of pit.

*Techniek der bepaling.**Het bereiden en stellen van de 2,6 dichloorphenolindophenoloplossing.*

Aangezien de handelspreparaten van het 2,6 dichloorphenolindophenol steeds in meer of mindere mate onzuiver zijn, kan men een oplossing van bepaalde sterkte niet verkrijgen door de stof af te wegen. De indicatoroplossing moet gesteld worden op een oplossing van ascorbinezuur, waarvan het gehalte bepaald is door titratie met jodium.

25 mgr. 1-ascorbinezuur (van de firma Hoffmann-La Roche, Bazel) worden opgelost tot een volume van 25 cc. in 5% azijnzuur, terwijl CO_2 ingeleid wordt om oxydatie te voorkomen. Bij 5 cc. van deze oplossing worden 1 cc. 20% KJ-oplossing en, uit een microburet, 5 cc. 0,02 N jodiumoplossing gevoegd. De overmaat jodium wordt met een 0,02 N thio-sulfaatoplossing uit een microburet teruggetitreerd, waarbij zetmeel als indicator gebruikt wordt.

Bij deze titratie in zuur milieu reageert alleen de gereduceerde vorm van het ascorbinezuur met jodium en wel 1 gram-molecule ascorbinezuur met 2 gramatomen jodium. Daar de ascorbinezuuroplossing niet houdbaar is, wordt direct na de titratie ervan, de indicatoroplossing ermee gesteld.

130 mgr. van het natriumzout van 2,6 dichloorphenolindophenol (van de firma Fraenkel & Landau, Berlijn-Oberschöne-weide) worden opgelost in 500 cc. heet, gedestilleerd water. Na afgekoeld te zijn wordt de oplossing gefiltreerd, een mespuntje NaHCO_3 eraan toegevoegd en gedurende enige dagen in het donker bewaard. Vervolgens nogmaals gefiltreerd, in een microburet gedaan en gesteld op de bovenbeschreven, gestelde ascorbinezuuroplossing. Deze wordt hiertoe tien maal verdund met gedestilleerd water. Van deze verdunde oplossing wordt 1 cc. in een wit porceleinen schaalteje gebracht, dan 3 cc. 3% trichloorazijnzuur eraan toegevoegd en vervolgens getitreerd met de indicatoroplossing.

Bij de genoemde gewichtsverhoudingen gebruikt 1 mgr. ascorbinezuur ongeveer 10 cc. van de indicatoroplossing.

De indicatoroplossing wordt in het donker bewaard en minstens één maal per week gesteld. Zij mag niet ouder worden dan ongeveer een maand, omdat oudere oplossingen niet geheel door ascorbinezuur ontkleurd worden, zodat dan het eindpunt van de titratie onduidelijk wordt door het optreden van een vuil-bruin-rode kleur.

Extractie der voedingsmiddelen en titratie van het ascorbinezuur.

De extractie had plaats met trichloorazijnzuur volgens Birch c.s. (38). 10 gr. van het te onderzoeken voedingsmiddel worden in een mortier met kwartszand fijngewreven, terwijl 3 % trichloorazijnzuur toegevoegd wordt totdat het totale volume 100 cc. bedraagt. Na goed gemengd te zijn, wordt het extract gefiltreerd, of, indien het slecht filtreert, gecentrifugeerd. Afhankelijk van de hoeveelheid ascorbinezuur die er in aanwezig is, kan nu 1—10 cc. van het extract in een wit porceleinen schaalje getitreerd worden. De mogelijkheid bestaat echter, dat reversibel geoxydeerd vitamine of andere reducerende stoffen aanwezig zijn of ook kan soms het extract door de aanwezigheid van kleurstoffen niet getitreerd worden. Daarom wordt het extract thans met mercuriacetaat behandeld (Emmerie en Van Eekelen (42)). Aangezien het ascorbinezuur op den duur in trichloorazijnzuur niet bestendig is, wordt de overmaat trichloorazijnzuur met CaCO_3 geneutraliseerd totdat het extract zwak zuur is (kleurloos t.o.v. congopapier, rood t.o.v. blauw lakmoes). Daarna wordt aan 20 cc. van het extract, in een centrifugebuis, zoveel van een 20 % mercuriacetaatoplossing toegevoegd, tot de aanwezige te precipiteren stoffen geheel neergeslagen zijn. Meestal is deze hoeveelheid mercuriacetaat 1 à 2 cc., bij sterk gekleurde extracten soms meer. Hierna wordt het neerslag zo vlug mogelijk afgecentrifugeerd, de bovenstaande vloeistof afgeschonken en met H_2S doorstroomd. Wanneer

al het overtollige kwik als sulfide geprecipiteerd is, wordt dit afgefiltreerd. De thans heldere kleurloze vloeistof wordt in een wijde reageerbuis met H_2S verzadigd, de buis met een kurk goed afgesloten en, in het donker, tot de volgende dag bewaard. Dan wordt de H_2S door een stikstof- of koolzuurstroom verwijderd, wat gecontroleerd wordt door een, met een loodacetaatoplossing vochtig gemaakt filtreerpapiertje, in de opening der buis te hangen. 1—10 cc. van het extract worden in een wit porceleinen schaalje met een 10 % trichloorazijnzuuroplossing aangezuurd tot een gehalte van 2 % trichloorazijnzuur en getitreerd.

Aan de hand van het volgende voorbeeld wil ik de deugdelijkheid van deze methode aantonen en speciaal de noodzakelijkheid laten zien van de reductie met H_2S , vooral ook wanneer het geldt het ascorbinezuurgehalte van verse planten te onderzoeken.

10 gr. van een en dezelfde (niet gekookte) aardappel werden telkens onder verschillende voorwaarden geëxtraheerd, met en zonder toevoeging van een bekende hoeveelheid kristallijn 1-ascorbinezuur. Vervolgens werd het extract direct getitreerd en na behandeling met kwikacetaat en H_2S (tabel II).

Uit deze bepalingen blijkt, dat wanneer men de aardappel fijnwrijft zonder trichloorazijnzuur, hetzij zonder (3) of met toevoeging van een bekende hoeveelheid ascorbinezuur (7), bij directe titratie niets of slechts een geringe fractie van de aanwezige hoeveelheid ascorbinezuur kan worden aangetoond. Daarentegen vindt men, indien men fijnwrijft onder trichloorazijnzuur en ook na reductie met H_2S , de oorspronkelijke aanwezige hoeveelheid ascorbinezuur terug. Hieruit blijkt dat het ascorbinezuur in het zwak zure milieu van het aardappelsap reversibel wordt geoxydeerd, wat niet geschiedt in 3 % trichloorazijnzuur. De reden hiervan moet gezocht worden in de aanwezigheid van oxydasen, die in zwak zuur milieu hun werking uitoefenen, daarentegen niet in sterk zuur milieu. De reverseerbare oxydatie in aardappelsap moet volgens Szent-Györgyi

en Vietorisz (61) toegeschreven worden aan de aanwezigheid van een polyphenoloxydase, die phenol tot chinon reduceert. Het chinon reduceert op zijn beurt weer het ascorbinezuur. In andere planten zijn echter ook oxydasen gevonden, die direct het ascorbinezuur reversibel oxyderen, bijvoorbeeld een hexoxydase in koolbladeren (Szent—Györgyi (62)) en een ascorbinezuuroxydase in de vruchten van *Cucurbita maxima* L. (Tauber en Kleiner (63)(64)).

TABEL II.

mgr. ascorbinezuur per 10 gr. van eenzelfde aardappel onder verschillende extractievoorwaarden.

1. Fijngewreven in een mortier onder trichloorazijnzuur 3 %	3,05
2. Extract (1) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	3,11
3. Fijngewreven zonder trichloorazijnzuur en vervolgens verdund met trichloorazijnzuur	0
4. Extract (3) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	3,11
5. Fijngewreven onder trichloorazijnzuur na toevoeging van 2,25 mgr. ascorbinezuur	5,36
6. Extract (5) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	5,35
7. Fijngewreven zonder trichloorazijnzuur na toevoeging van 2,25 mgr. ascorbinezuur en daarna verdund met trichloorazijnzuur	0,36
8. Extract (7) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	5,35

Dat men in het geval van de aardappel met een thermolabiele oxydase te doen heeft, blijkt uit de volgende bepalingen, die verricht werden bij gekookte aardappels (tabel III).

TABEL III.

mgr. ascorbinezuur per 10 gr. van eenzelfde aardappel vóór en na koken.

1. Fijngewreven onder 3 % trichloorazijnzuur vóór koken	3,18
2. Extract (1) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	3,21
3. 45 min. gekookt, vervolgens aangewreven met trichloorazijnzuur	2,67
4. Extract (3) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	2,59
5. 45 min. gekookt en vervolgens aangewreven zonder trichloorazijnzuur en verdund met trichloorazijnzuur	2,59
6. Extract (5) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	2,48
7. Fijngewreven, 45 min. gekookt, daarna verdund met trichloorazijnzuur	0
8. Extract (7) na behandeling met mercuriacetaat en H_2S	0,13

Hieruit ziet men, dat na koken er slechts geringe verschillen gevonden werden tussen extractie in zwak of sterk zuur milieu en na reductie. Door het koken is hier de oxydase vernietigd en blijft het ascorbinezuur in zijn gereduceerde toestand bestaan.

Aangezien men bij het onderzoek van plantaardig materiaal steeds de kans loopt, bijvoorbeeld in gekneusde delen, reversibel geoxydeerd ascorbinezuur aan te treffen, of door het gebruik van een onvoldoende hoeveelheid trichloorazijnzuur, tijdens het fijnwrijven de mogelijkheid bestaat van reversibele oxydatie, is het noodzakelijk het betreffende extract eerst te reduceren. Dit blijkt ook uit tabel V waar van een aantal groenten het ascorbinezuurgehalte getriteerd werd vóór en na reductie. Na reductie werd in het algemeen een hogere waarde gevonden.

Uit de proeven met de aardappel en wel speciaal uit die, waarbij een bekende hoeveelheid ascorbinezuur voor de extractie werd toegevoegd, blijkt tevens de nauwkeurigheid van de methode. Deze toegevoegde hoeveelheid werd binnen de

foutengrens van de titratie teruggevonden (tabel II, toegevoegd 2,25 mgr., teruggevonden $5,35 - 3,11 = 2,24$ mgr.). Ook ziet men (tabel III) dat door het koken het ascorbinezuurgehalte afneemt (van 3,21 tot 2,59 mgr) en dat deze afname zeer sterk is, indien het ascorbinezuur reeds vóór het koken reversibel geoxydeerd is (van 3,21 tot 0,13 mgr.). Een toename van reductie na koken, zoals dit door McHenri en Graham (65) beschreven is, heb ik nooit kunnen constateren. Deze auteurs vonden dat de behandeling van plantenextracten met mercuriacetaat leidde tot een groot verlies ($\pm 30\%$) aan ascorbinezuur. De reden hiervan moet waarschijnlijk gelegen zijn in het niet snel genoeg opwerken van het extract na de toevoeging van het mercuriacetaat. Wordt dit mengsel n.l. gefiltreerd, dan loopt het in het algemeen zeer langzaam door het filter. Het reversibel geoxydeerde vitamine, dat zeer gevoelig is voor verdere irreversibele oxydatie, heeft dan gelegenheid verder te ontleden. Wij filtreren daarom deze mengsels niet, maar centrifugereren ze in een snel draaiende centrifuge (5000 toeren per min.), zodat een extract reeds ± 5 min. na toevoeging van het kwikacetaat onder H_2S staat. Bovendien verkeert het ascorbinezuur gedurende deze tijd in gunstige uitwendige omstandigheden, n.l. in zwak zuur milieu en in een omgeving van CO_2 , dat ontstaat bij de neutralisatie van het trichloorazijnzuur door $CaCO_3$.

Op deze wijze wordt een verlies aan ascorbinezuur, dat groter is dan hoogstens enkele procenten, voorkomen, wat blijkt uit tabel II en III.

De invloed van de tijd, die verloopt tussen de toevoeging van het kwikacetaat en de doorstroming met H_2S , op het verlies aan ascorbinezuur blijkt uit de volgende bepalingen, die gedaan werden met oplossingen van kristallijn ascorbinezuur (tabel IV).

TABEL IV

	Tijd in min.	mgr. ascorbine- zuur	% terug- gevonden asc.-zuur
10 cc. ascorbinezuuroplossing zonder mercuriacetaat, na behandeling met H_2S .	—	0,43	100
Idem + 1 cc. mercuriacetaatoplossing 20 %	1	0,42	98
" + 1 " " 20 %	5	0,42	98
" + 1 " " 20 %	10	0,41	95
" + 1 " " 20 %	20	0,40	93
" + 1 " " 20 %	30	0,37	86
" + 1 " " 20 %	60	0,35	81

Wanneer het mengsel van zuiver ascorbinezuur en kwikacetaat met H_2S behandeld wordt, dan blijft het kwiksulfide colloïdaal in oplossing. Met een weinig zout kan men het echter uitzouten, waarna het afgefiltreerd kan worden.

Thans volgen de ascorbinezuurbepalingen van de voornaamste voedingsmiddelen (tabel V). Dit zijn natuurlijk in de eerste plaats aardappels, groenten en vruchten. Zoals reeds op blz. 15 opgemerkt is, kan men een ascorbinezuurbepaling in brood en andere verhitte spijsen door titratie niet uitvoeren, omdat hierin reductonen voorkomen. Wat brood betreft kan men gevoeglijk zeggen, dat hierin geen vitamine C voorkomt. Het zelfde geldt voor vetten (boter) en kaas.

TABEL V

Ascorbinezuurgehalte van Voedingsmiddelen

	mgr. per 100 gr.	
	Vóór behande- ling met $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en H_2S	Na behande- ling met $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en H_2S
Gekookte groenten:		
Aardappelen (oud, Juni)	—	8,4
Aardappelen (nieuw, Juni)	22,4	24,5
Aardappelen (October)	19,8	20,2
Andijvie	0,4	0,9
Appelmoes (van goudreinetten)	—	5,3
Bloemkool	—	22
Boerenkool (gesneden)	—	14,2
Boerenkool (gemalen)	—	10,3
Bruine bonen	—	1
Brussels lof	0,8	2
Capucijners	—	1,2
Chinese kool	—	6,8
Groene erwten	—	1,2
Komkommer (rauw)	5,9	6,5
Koolraap	12,6	14,6
Postelein	4,5	7,4
Prei	15,4	16,4
Princessebonen	5,7	11,2
Rhabarber	9,7	11,6
Rode biet	—	8
Rode kool	—	16,8
Savoye kool	5,4	7,5
Sla (rauw)	8	12,2
Snijbonen	5,9	8
Spinazie	1	1,3
Spruitjes	24,4	25,5
Tuinbonen	16	16,6
Uien	—	4,9
Witte bonen	—	1
Worteltjes	3	5,8
Gekookte groenten uit blik:		
Andijvie (extra)	1,4	2,7
Asperges (dik)	8,7	11,6
Stoofasperges (dun)	8,3	9,1
Soepasperges	6	7,6
Doperwten (middel 2)	—	7,8
Doperwten (fijn)	5,5	7,6
Rijsdoperwten (fijn)	—	8,3

TABEL V (Vervolg)

Ascorbinezuurgehalte van Voedingsmiddelen

	mgr. per 100 gr.	
	Vóór behan- deling met $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en H_2S	Na behan- deling met $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en H_2S
Peulen	—	3,3
Snijbonen	1,3	3,9
Hollandse snijbonen	1,6	3,4
Pronksnijbonen	0,9	2
Sperciebonen (hele)	—	11
Sperciebonen (gebroken)	—	8,8
Dubbele sperciebonen	—	5,4
Spinazie	2,8	3,8
Tuinbonen (groot)	5,7	7,2
Tuinboontjes (klein)	9,4	13
Tuinboontjes (extra fijn)	4,1	5,1
Worteltjes (fijn)	—	3,2
Worteltjes (extra fijn)	—	2,2
Wortelen (gesneden)	—	2,4
Gekookte groenten uit het zout:		
Andijvie	—	1,3
Snijbonen	—	1,5
Sperciebonen	—	7,8
Zuurkool (nieuw, October)	2,8	5,8
Zuurkool (oud, Mei)	2,3	4,1
Vruchten:		
Aalbessen	—	8,1
Aardbeien	—	68
Ananas (uit blik)	6,7	8,1
Appel (Yellow transparant)	2,7	7
Appel (Goudreinet)	—	6,3
Bosbessen	—	9,8
Banaan	8,2	11,7
Bramen	—	14,9
Citroen (100 cc. sap)	43,4	42,3
Druif	0	3,2
Framboos	—	28,4
Kers	—	14,3
Meloen	23,4	30,3
Peer (Clapp's favoriet)	1,9	4,2
Perzik	9,3	12
Pruim (Reine Claude)	3,6	8,3
Radijs	—	23

TABEL V (Vervolg)

Ascorbinezuurgehalte van Voedingsmiddelen

	mgr. per 100 gr.	
	Vóór behande- ling met $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en H_2S	Na behande- ling met $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en H_2S
Sinaasappels:		
Union of South Africa	—	61,6
Laranjas do Brasil	—	34,4
Sunkist	—	34,4
Suriname	—	50
Mandarijn	—	20,6
Tomaat	12,6	13
Zwarte bessen	—	135,2
Melk, Vlees, Vis:		
Melk (rauw)	—	2,1 ¹⁾
Melk (gepasteuriseerd)	—	0,6 ¹⁾
Melk (Stassano)	—	1,9 ¹⁾
Melk (gekookt)	—	1,5
Rundvlees (rauw)	—	1,8
Varkensvlees (rauw)	—	1,7
Vis (zeepaling, gekookt)	—	1,7
Eieren	—	0

¹⁾ Gemiddelde waarden, bepaald door Van Wijngaarden (66). Voor mijn bepalingen werd de precipitatie-methode toegepast: 25 cc. melk worden met 15 cc. 20 % mercuriacetaat geprecipiteerd, vlug gecentrifugeerd en dan nog even gefiltreerd. Het filtraat wordt met H_2S doorstroomd en verder behandeld als op blz. 22 voor extracten beschreven is.

II. Berekening van de hoeveelheid vitamine C, die dagelijks door de mens in ons land gegeten wordt.

Met de in tabel V genoemde gegevens over het gehalte aan ascorbinezuur in de voedingsmiddelen zijn wij thans in staat de hoeveelheid vitamine C, die met het voedsel dagelijks wordt opgenomen, althans bij benadering te berekenen. Hiervoor moeten wij echter de hoeveelheden der genoten voedingsmiddelen kennen. Er zijn de laatste jaren een aantal publicaties verschenen, die ons hierover kunnen inlichten.

In de eerste plaats de dissertatie van Banning: „De voeding te Zaandam in 1929/1930” (67). Hierin wordt nauwkeurig de voeding beschreven van 33 gezinnen, uit verschillende welstandsklassen, gedurende vier achtereenvolgende weken in de winter (20 Januari—17 Februari), vijf weken in de lente (28 April—2 Juni) en zes weken in het najaar (30 September—10 November). De 33 gezinnen kunnen verdeeld worden in de volgende groepen:

- I. Arbeiders en daarmee gelijkgestelden (14 gezinnen).
- II. Lagere ambtenaren, kantoorbedienden, opzichters, enz. (13 gezinnen).
- III. Hogere ambtenaren en daarmee gelijkgestelden (6 gezinnen).

Hoewel in de dissertatie geen nadere specificatie gegeven wordt van de gebruikte groenten, is deze te vinden in de uitvoerige verzamellijsten, die Banning in de Universiteitsbibliotheek te Utrecht gedeponeerd heeft. Aan de hand van deze lijsten heb ik de vitamine C-consumptie per „mansdag” ¹⁾

¹⁾ Banning berekende het voedselgebruik van een gezin per man en per dag volgens de door hem iets gewijzigde methode van Lusk:

man (boven 13 jaar)	= 1 manswaarde
vrouw (boven 13 jaar)	= 0,83 „
kind (10—13 jaar)	= 0,83 „
kind (6—10 jaar)	= 0,60 „
kind (2—6 jaar)	= 0,50 „
kind (tot 2 jaar)	= 0,30 „
borstkind met bijvoeding	= 0,20 „

berekend (tabel VI). Uit den aard der zaak zijn de uitkomsten van deze berekeningen slechts bij benadering juist. Immers zal het vitamine C-gehalte van de door de proefgezinnen gebruikte voedingsmiddelen nooit precies gelijk zijn aan dat van de door mij bepaalde. De soort ervan en ook de duur der bereiding is hierbij van invloed. Men kan echter veronderstellen, dat de gemiddelde waarde van het vitamine C-gehalte van alle voedingsmiddelen samen, niet sterk zal afwijken van de gemiddelde waarde van mijn bepalingen. Bij de berekening van het vitaminegehalte van sommige voedingsmiddelen deed zich de moeilijkheid voor, dat uit de tabellen van B a n n i n g niet bleek in welke toestand zij gegeten werden. Dit is bijvoorbeeld het geval met de melk. Hiervan is niet opgegeven hoeveel ervan rauw, gekookt of gepasteuriseerd gedronken werd en hoeveel voor de bereiding van pudding e.d. gebruikt werd. Als gemiddelde heb ik 1 mgr. per 100 cc. aangenomen. Hetzelfde geldt voor vlees en vis. Hiervoor werd 1 mgr. per 100 gr. berekend. Voor de geconserveerde groenten werd het gemiddelde genomen van de waarden van de groenten uit blik en uit het zout. Voor aardappels werd in de periode April-Juni 8,4 mgr., September-November 20,2 mgr. en Januari-Februari 15 mgr. per 100 gr. berekend. In de tabellen van B a n n i n g zijn de gewichten der verse voedingsmiddelen vermeld. Voor mijn bepalingen heb ik de gekookte voedingsmiddelen steeds in gekookte toestand afgewogen. Het bleek echter dat de gewichten voor en na koken praktisch gelijk zijn, uitgezonderd die van bonen en erwten, welke ongeveer tweemaal in gewicht toenemen, wanneer zij gekookt worden. Dit werd bij de berekening in acht genomen.

Voor de proefpersonen werd ook berekend (tabel VI), hoe de dagelijks opgenomen hoeveelheid ascorbinezuur, verdeeld is over de volgende groepen van voedingsmiddelen:

- | | |
|---------------------------------|-------------------------|
| A = aardappelen. | C = fruit. |
| B = groenten. | D = melk, vlees en vis. |
| T = totaal aantal milligrammen. | |

TABEL VI

Nummer	Beroep	Voorjaar					Najaar					Winter				
		A	B	C	D	T	A	B	C	D	T	A	B	C	D	T
Groep I																
4	smid	25	11	5	12	53	23	11	8	9	51	44	11	15	10	80
5	agent van politie	24	17	35	5	81	57	13	11	5	86	36	17	28	6	87
7	emballeur	29	14	18	6	67	43	17	4	6	70	42	17	7	6	72
8	werkmán G.R.	20	10	7	4	41	42	13	1	3	59	34	18	9	4	65
9	metaalbewerker	34	16	6	7	63	59	27	2	7	95	49	29	18	7	103
11	machinist	—	—	—	—	—	41	7	10	5	63	29	5	25	4	63
13	fabrieksarbeider	37	15	7	5	64	80	22	4	4	110	38	19	1	4	62
14	ovenist	33	13	28	9	83	61	14	8	7	90	42	11	18	8	79
15	rijksveldwachter	19	15	14	4	52	62	5	24	4	95	48	13	27	5	93
18	timmerman	22	20	48	11	101	63	8	7	9	87	49	24	25	11	109
20	winkelbediende	33	11	35	6	85	86	16	10	6	118	53	19	29	6	107
22	typograaf	44	23	21	10	98	85	25	5	10	125	86	25	20	8	139
31	munitiearbeider	27	14	53	6	100	60	10	13	4	87	50	27	35	4	116
32	bankwerker	27	13	40	12	92	57	12	11	9	89	40	15	32	10	97
	Gemiddeld	29	15	24	7	75	58	14	8	6	87	46	18	21	6	91
Groep II																
1	zweminstructeur	43	16	23	5	87	99	11	12	4	126	83	15	9	5	112
6	ambtenaar R. v. A.	27	13	16	7	63	67	18	7	8	100	70	15	26	9	120
10	opzichter Gem.	26	17	49	8	100	52	15	11	10	88	40	10	41	18	109
12	kantoorbediende	24	24	33	11	92	75	7	14	10	106	49	13	10	14	86
16	winkelbediende	23	16	34	6	79	72	13	9	5	99	40	13	22	6	81
17	politieambtenaar	27	12	0	12	51	49	6	7	12	74	42	11	7	12	72
19	ambtenaar R. v. A.	37	17	18	8	80	104	15	8	9	136	83	24	39	9	155
21	middenstander	14	20	41	7	82	33	15	11	8	67	25	13	23	7	68
23	onderwijzer	23	20	51	3	97	51	17	15	3	86	37	19	27	3	86
26	kantoorbediende	14	28	64	12	118	46	19	21	12	98	33	27	43	12	115
28	conciërge	37	28	41	6	112	68	19	16	5	108	62	36	42	6	146
30	handelaar	31	26	79	5	141	57	11	16	5	89	24	25	53	5	107
33	amanuensis	38	12	37	7	94	77	13	10	6	106	50	13	21	7	91
	Gemiddeld	28	19	37	8	92	65	14	12	8	99	49	18	28	9	104
Groep III																
2	hoofdamtenaar G.	10	25	14	4	53	37	12	17	4	70	30	11	70	5	116
3	leraar	18	11	33	7	69	47	10	11	7	75	34	20	20	7	81
24	fabrieksdirecteur	23	12	27	11	73	49	11	12	10	82	38	11	18	11	78
25	industriëel	27	24	56	8	115	60	18	21	9	108	39	26	48	9	122
27	leraar	22	22	29	9	82	33	19	4	15	71	41	30	13	8	92
29	leraar	24	15	74	10	123	55	14	19	10	98	42	19	74	10	145
	Gemiddeld	21	18	39	8	86	47	14	14	9	84	37	19	41	8	105

Na het uitvoerig onderzoek van Banning over de voeding te Zaandam, zijn er enige gegevens gepubliceerd over de voeding op het platteland: Banning, Bijdrage tot de kennis van de volksvoeding op het platteland van Noord-Holland (te Westzaan) (68); Hornstra, Eenige gegevens over voeding uit Zuid-West Drenthe (te Nijeveen) (69); Den Hartog, De voeding van den Groningschen landarbeider (te Wehe, den Hoorn en Warfhuizen) (70). In deze publicaties zijn de groenten en het fruit niet gespecificeerd opgegeven, waardoor een berekening van het vitamine C-gehalte niet goed mogelijk is. Den Hartog noemt de koolsoorten en snijbonen en prinsessebonen uit het zout, als de voornaamste groenten, die 's winters door de Groningse landarbeiders gegeten worden. Volgens Hornstra eet de Drentse boer slechts weinig groenten. Hij zegt: „In den slatijd eet men dagelijks sla en als die op is voelt men het ook niet als een grote ontbering om dan eens geen „bijspize" te eten."

Om aan de hand van deze gegevens toch nog een berekening van het vitamine C-gebruik te maken, heb ik verondersteld, dat in het voorjaar slechts groenten uit het zout gegeten worden (gemiddeld 3,5 mgr. ascorbinezuur per 100 gr.). Voor aardappels wordt dan 8,4 mgr. gerekend; vlees en vis worden verwaarloosd. Voor de zomer en het najaar heb ik voor de groenten 10 mgr., voor aardappels 20 mgr., voor vruchten

TABEL VII

	Westzaanse boer			Drentse boer			Groningse landarbeiders		
	gr.	mgr. Vitamine C		gr.	mgr. Vitamine C		gr.	mgr. Vitamine C	
		voorjaar	najaar		voorjaar	najaar		voorjaar	najaar
Melk . . .	970	9,7	9,7	667	6,7	6,7	563	5,6	5,6
Aardappels .	319	26,8	63,8	558	46,9	111,6	543	45,6	108,6
Groenten . .	139	4,8	13,9	07	—	—	214	7,5	21,4
Fruit . . .	22	—	1,1	07	—	—	26	—	1,3
mgr. Vit. C . per mansdag.		41,3	88,5		53,6	118,3		58,7	136,9

5 mgr. per 100 gr. berekend. Dit is dus wel de minimum hoeveelheid vitamine, die in deze perioden zal worden gegeten (tabel VII).

Het is nu de vraag in hoeverre deze hoeveelheden vitamine C gedurende de verschillende jaargetijden, voor de mens voldoende zijn. Om dit te beoordelen moeten we echter weten hoeveel ascorbinezuur de mens per dag nodig heeft. Dit zal in hoofdstuk V berekend worden. Daarna eerst zullen de hier verkregen uitkomsten nader worden besproken.

HOOFDSTUK IV

DE BEPALING VAN VITAMINE C IN BLOED EN URINE

Toen in 1933 door Birch c.s. de titratiemethode met 2,6 dichloorphenolindophenol in zuur milieu met succes was toegepast voor de bepaling van het ascorbinezuurgehalte van dierlijke weefsels, was de mogelijkheid gegeven met deze methode de aanwezigheid van ascorbinezuur in bloed en urine van de mens te onderzoeken. Indien immers het vitamine in deze lichaamsvloeistoffen voorkomt en men een methode heeft het quantitatief erin te bepalen, dan kon men misschien zodoende een inzicht krijgen in de verzadigingstoestand van verschillende mensen met dit vitamine en eventuele tekorten op het spoor komen.

Hoewel Van der Walle (1922) (71) met dierproeven geen vitamine C in de urine van de mens kon aantonen, vonden wij, evenals Von Euler en Klusmann (72), dat er stoffen in voorkomen, die 2,6 dichloorphenolindophenol in zuur milieu reduceren. Berekend als ascorbinezuur bepaalden wij een vrij constante dagelijkse uitscheiding van 20—30 mgr. bij volwassen mensen. De mate van uitscheiding bleek onafhankelijk van de geloosde hoeveelheid urine en was overdag groter dan 's nachts. (Van Eekelen, Emmerie, Josephy en Wolff) (73) (74) (59).

Wanneer echter, in de vorm van sinaasappelsap, 150 mgr. ascorbinezuur ingenomen werden, dan nam de uitscheiding

plotseling sterk toe, bereikte een maximum ongeveer 3 uur na de toediening, en daalde vervolgens in de loop van een dag weer tot zijn oorspronkelijke niveau. Deze proef verliep bij een aantal personen gedurende de maanden Juni en Juli steeds met het zelfde resultaat. Toen wij dit echter bij de zelfde proefpersonen herhaalden in November, bleek dat zij thans op een dosis van 150 mgr. ascorbinezuur niet met verhoogde uitscheiding reageerden, maar dat deze pas optrad nadat die dosis gedurende 3—10 dagen dagelijks was toegediend. Wij trokken hieruit de conclusie, dat alleen wanneer het lichaam vrijwel verzadigd is met vitamine C, een dosis van 150 mgr. ascorbinezuur een verhoogde uitscheiding veroorzaakt, maar dat bij gedeeltelijke verzadiging eerst zoveel ascorbinezuur moet worden toegediend totdat het verzadigingspeil bereikt is en dat eerst dan de verhoogde uitscheiding optreedt.

Met deze „verzadigingsproef” zou men dus kunnen bepalen hoever iemand van het verzadigingspunt af is, dus een meer of minder gebrek aan ascorbinezuur kunnen aantonen. Gelijktijdig en onafhankelijk van ons kwamen Harris, Ray en Ward (75) tot precies de zelfde resultaten. Daarna werden door een groot aantal onderzoekers vitamine C-bepalingen in urine gedaan (bijv. Hessen Benjamin (76), Johnson en Silva (77), Von Euler en Malmberg (78) (79), Bezssonoff c.s. (47) (80), Schroeder (81), Von Drigalski (82) (83), Hardec.s. (84), Finkle (85)).

Evenals wij deden bij het begin van onze onderzoeken (1933), bepaalden deze onderzoekers het ascorbinezuurgehalte van de urine door titratie met 2,6 dichloorphenolindophenol in zuur milieu (uitgezonderd Bezssonoff c.s., die het bepaalden met phosphorwolfraam-molybdeen-zuur en Drigalski en Schroeder door titratie met jodium). De vraag is echter of men dit zonder meer mag doen, of er dus geen andere, de indicator reducerende stoffen, in urine voorkomen. Zoals reeds op blz. 16 gezegd is, is de enige afdoende methode om de aanwezigheid van ascorbinezuur aan te tonen,

de dierproef. En inderdaad lukte het ons, door voederproeven op caviae, te bewijzen, dat de grote hoeveelheid reducerende stof, die na verzadiging in de urine wordt uitgescheiden, identiek is met vitamine C. Ook Johnson en Silva (77) toonden, een jaar later (zonder onze onderzoeken te kennen), de antiscorbutische werking van urine aan. Dat Van der Walle niet instaat was het vitamine in urine aan te tonen, moet toegeschreven worden aan de te geringe hoeveelheid van de nachturine (die minder vitamine bevat dan de dagurine), die hij dagelijks aan zijn proefdieren voerde. Bovendien bleek ons dat na toepassing van de reinigingsmethode met mercuriacetaat, uit de urine van normale personen, die 20—30 mgr. vitamine per dag uitscheiden, ongeveer de helft der reducerende stoffen door het kwikacetaat geprecipiteerd wordt, dus niet identiek is met ascorbinezuur. De normale uitscheiding bedraagt dus slechts 10—15 mgr. per dag. Berekent men hieruit de hoeveelheid ascorbinezuur, die Van der Walle maximaal dagelijks aan zijn caviae gaf (20 cc. urine), dan is dit hoogstens 0,2—0,3 mgr., wat voor een cavia van 300—400 gr. te weinig is om scheurbuik te voorkomen (de prophylactische dosis voor de cavia is $\pm$ 0,5 mgr. per 100 gr. gewicht per dag).

Zoals gezegd komen er in urine andere stoffen voor, die evenals ascorbinezuur de indicator in zuur milieu reduceren. Sullivan en Hess (86) vonden in normale urines ergothioneine, terwijl ik in sommige pathologische urines grote hoeveelheden thiosulfaten kon aantonen. Deze beide stoffen reduceren de indicator in zuur milieu, kunnen echter door precipitatie met mercuriacetaat verwijderd worden.

Ascorbinezuurbepaling in urine.

De urine wordt direct na lozing onderzocht. De reactie ervan moet zuur zijn t.o.v. lakmoes. Neutrale of alkalische urine wordt eerst met azijnzuur aangezuurd. In een centrifugebuis worden aan 10 cc. urine 20 cc. van een 20 % mercuriacetaat-

oplossing toegevoegd, vlug met een roerstaaf gemengd en snel gecentrifugeerd. De bovenstaande vloeistof wordt van het sediment afgeschonken in een wijde reageerbuis en vervolgens met H_2S doorstroomd. De bewerking van het ogenblik af, dat er kwikacetaat bij de urine is gevoegd, tot aan de doorstroming met H_2S , moet zo kort mogelijk duren. Zij kan volbracht worden in ± 5 min. Nadat door de H_2S het overvloedige kwikacetaat geprecipiteerd is, wordt dit afgefiltreerd. De gefiltreerde, heldere, kleurloze vloeistof wordt in een wijde reageerbuis met H_2S verzadigd, de buis met een kurk goed afgesloten en tot de volgende dag bewaard. Dan wordt de H_2S door middel van een stikstof- of koolzuurstroom verdreven. 5 cc. worden na toevoeging van 1 cc. 10 % trichloorazijnzuur getitreerd.

Voegt men ascorbinezuur aan urine toe, dan vindt men na bovenbeschreven behandeling hiervan 95—98 % terug (zie tabel VIII).

TABEL VIII

	mgr. ascorbinezuur na behandeling met $Hg(CH_3COO)_2$ en H_2S	Teruggevonden hoeveelheid ascor- binezuur
10 cc. urine	0,13	
Idem + 1,66 mgr. ascorbinezuur .	1,70	95 %
10 cc. urine	0,06	
Idem + 2 mgr. ascorbinezuur . .	2,02	98 %

In de urine van normale personen, die geen verhoogde vitamine-uitscheiding hebben, dus niet over hun verzadigingspunt heen zijn, vindt men gewoonlijk bij directe titratie een vrij constante dagelijkse uitscheiding van 20—30 mgr. (berekend als ascorbinezuur). Na precipitatie met kwikacetaat blijkt echter, dat slechts ongeveer de helft hiervan (10—15 mgr.) ascorbinezuur is (tabel IX, blz. 41). In de urine van

sommige diabetici (niet bij allen!) vond ik (87) echter een geheel andere verhouding tussen de reductiecapaciteit vóór en na behandeling met kwikacetaat (tabel IX). Wanneer het ascorbinezuur in de urine van deze patiënten bepaald werd door directe titratie in zuur milieu, dan werd een uitscheiding gevonden tot 100 mgr. per dag toe (berekend als ascorbinezuur). Na behandeling met kwikacetaat werd evenwel de normale hoeveelheid bepaald (10—15 mgr. per dag). Door deze patiënten werd dus in relatief hoge mate een stof uitgescheiden, die evenals ascorbinezuur de indicator in zuur milieu reduceert, die echter door kwikacetaat wordt neergeslagen, dus niet identiek is met ascorbinezuur.

Een voorlopig onderzoek naar de natuur van deze stof leverde het volgende op. Suikers of van suikers afstammende reductonen, waaraan men bij diabetespatiënten zou kunnen denken, moeten als oorzaak der reductie uitgesloten worden. Immers suikers reduceren de indicator niet, terwijl zowel suikers als reductonen niet door kwikacetaat geprecipiteerd worden. Dit laatste geldt ook voor het reductinezuur, dat door hydrolyse uit glucuronzuur ontstaan kan (Reichstein en Oppenauer) (88).¹⁾ De stof reduceerde Hg_2Cl_2 , wat glutathion en phenolen niet doen, zodat deze dus uitgeschakeld kunnen worden. De nitroprusside-test op glutathion en cysteine was, evenals de reactie met het diazoreagens op ergothioneine volgens Hunter (89), negatief. De bepaling van ergothioneine volgens Williamson en Meldrum (90) (precipitatie met koperoxyde in een milieu van 0,5 H_2SO_4) had als resultaat, dat van een urineconcentraat, dat 80 cc. indicatoroplossing reduceerde, slechts een hoeveelheid ergothioneine bepaald werd, die 1,5 cc. indicatoroplossing reduceerde.

Het bleek dat de reducerende stof geprecipiteerd werd door

¹⁾ Ik heb het gedrag van reductinezuur t.o.v. kwikacetaat kunnen bestuderen aan een hoeveelheid van deze stof, die Dr. Reichstein mij welwillend ter beschikking stelde.

bariumzouten. Werd na precipitatie met bariumacetaat het precipitaat met 10 % H_2SO_4 aangezuurd, dan ging de stof weer in oplossing. Zij bleek echter in H_2SO_4 onbestendig te zijn. Een oplossing in 10 % H_2SO_4 , die per cc. 1,6 cc. indicatoroplossing reduceerde, had na een verblijf van een nacht in de ijskast, nog maar een reductie van 0,3 cc. indicatoroplossing per cc. Gedurende die tijd was de oplossing wit-troebel geworden. Na afgecentrifugeerd te zijn gaf het witte sediment, na koken met NaOH , een positieve nitroprusside reactie, was dus klaarblijkelijk zwavel. Hierdoor rees het vermoeden dat de reducerende stof een thiosulfaat was. Ook de reactie met AgNO_3 wees hierop. Hiermee gaf de urine een wit precipitaat, dat na verloop van enige tijd geel en tenslotte bruin-zwart werd. Thiosulfaat bleek in zuur milieu 2,6 dichloorphenolindophenol zeer snel te reduceren (1 cc. 0,001 N. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gebruikt 1,2 cc. indicatoroplossing, waarvan 9 cc. gebruikt worden door 1 mgr. ascorbinezuur). Werd thiosulfaat aan normale urine toegevoegd, dan kon dit door precipitatie met kwikacetaat quantitatief worden verwijderd (tabel IX).

Door Salkowsky (91) werd de aanwezigheid van thiosulfaten in de urine van katten beschreven. Ik heb daarom het gedrag van kattenurine ten opzichte van de indicator nagegaan. Het bleek, dat deze urine de indicator in zuur milieu sterk reduceerde. Door kwikacetaat en ook door bariumacetaat werd de reducerende stof echter geprecipiteerd (tabel IX en X).

In de urine van gezonde mensen wordt ongeveer de helft van de reducerende stoffen, zowel door kwikacetaat als door bariumacetaat geprecipiteerd. Het is dus waarschijnlijk, dat ook hierin kleine hoeveelheden reducerende zwavelverbindingen voorkomen. Wanneer gezonde mensen met ascorbinezuur verzadigd zijn en deze stof dus in verhoogde mate met de urine uitscheiden, dan is de verhouding tussen het ascorbinezuur en de, met kwikacetaat te precipiteren reducerende stof-

hoge waarden. Dit geldt vooral voor de bepalingen van Von Drigalski en Schroeder, welke door titratie met jodium verkregen werden, een reagens dat geheel en al onspecifiek is voor ascorbinezuur. De gevolgtrekkingen, die uit al deze onderzoeken gemaakt werden, moeten dus met de nodige reserve bekeken worden.

Ascorbinezuurbepaling in bloed.

Aangezien er ook in bloed andere stoffen dan ascorbinezuur voorkomen, die eveneens de indicator reduceren (glutathion, ergothioneine), is het ook hierbij noodzakelijk deze stoffen door precipitatie met kwikacetaat te verwijderen. Hier toe wordt het bloed op de volgende manier behandeld (Emmerie en Van Eekelen (42)):

Aan 20 cc. vers bloed, dat met 20 mgr. kaliumoxalaat onstolbaar gemaakt is, worden, in een centrifugebuis 20 cc. 10 % trichloorazijnzuur toegevoegd, waardoor de eiwitten neergeslagen worden. Het mengsel wordt met een glazen staaf goed geroerd. Vervolgens worden 10 cc. 20 % mercuriacetaatoplossing toegevoegd en gemengd. Na 1 min. wordt met CaCO_3 de overmaat trichloorazijnzuur geneutraliseerd totdat het mengsel zwak zuur is (kleurloos t.o.v. congopapier, rood t.o.v. blauw lakmoes). Daarna wordt snel gecentrifugeerd, de bovenstaande vloeistof wordt snel gefiltreerd en vervolgens met H_2S doorstroomd. De verdere behandeling heeft op de zelfde wijze plaats als voor urine beschreven is.

Wanneer men een bloedextract titreert na de precipitatie met trichloorazijnzuur (dus vóór de behandeling met kwikacetaat en reductie met H_2S), dan vindt men géén of slechts een geringe hoeveelheid reducerende stoffen, zelfs dan wanneer men een extra hoeveelheid ascorbinezuur aan het bloed toegevoegd heeft. Hieruit zou men dus de conclusie kunnen trekken, wat wij oorspronkelijk ook gedaan hebben, dat het ascorbinezuur in de reversibel geoxydeerde vorm in het bloed aanwezig is en dat een toegevoegde hoeveelheid ascorbinezuur

door het bloed reversibel geoxydeerd wordt (Van Eekelen, Emmerie, Josephy en Wolff (92) (73)). De volgende bepalingen tonen echter aan dat zulks niet het geval is (tabel XI).

TABEL XI

mgr. ascorbinezuur per 10 cc. runderbloed, -plasma en -bloedlichaampjes

	Na precipitatie met CCl_3COOH	Na reductie met H_2S	Na precipitatie m. CCl_3COOH en $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ en reductie met H_2S
Bloed	0	0,28	0,042
Plasma	0,035	—	0,034
Bloedlichaampjes	0	—	0,050
Bloed + 0,9 mgr. ascorb.zuur	0,15	—	0,93
Idem, gecentrifugeerd; in 5 cc. plasma	0,75	—	0,75
Bloed + 4,92 mgr. ascorb.zuur	3,31	—	4,91
Plasma + 4,92 mgr. „	4,89	—	4,91

Uit deze tabel blijkt: 1. Dat het ascorbinezuur zowel in het plasma als in de bloedlichaampjes voorkomt. 2. Dat precipitatie met kwikacetaat noodzakelijk is, want na reductie met H_2S , zonder voorafgaande precipitatie met kwikacetaat, wordt een veel grotere titratiewaarde gevonden dan na precipitatie met kwikacetaat, waaruit de aanwezigheid van andere reducerende stoffen blijkt. 3. Dat het ascorbinezuur in het plasma in gereduceerde toestand wordt aangetroffen (geen verschil in reductiewaarde vóór en na behandeling met kwikacetaat). 4. Dat, wanneer er bij de precipitatie met trichloorazijnzuur bloedlichaampjes aanwezig zijn, er een reversibele oxydatie plaats vindt. Ook een toegevoegde hoeveelheid ascorbinezuur wordt dan, althans gedeeltelijk, reversibel geoxydeerd. Om deze reden is het moeilijk uit te maken in welke toestand het ascorbinezuur in de bloedlichaampjes zelf aanwezig is.

De reversibele oxydatie van het ascorbinezuur, tijdens de precipitatie met trichloorazijnzuur, heeft vooral plaats, wanneer het bloed met zuurstof verzadigd is. Wordt het bloed

voor de precipitatie met CO_2 of CO doorstroomd, dan wordt er slechts weinig ascorbinezuur tijdens de behandeling met trichloorazijnzuur geoxydeerd (tabel XII).

TABEL XII

	Na precipitatie met CCl_3COOH	Na precipitatie m. CCl_3COOH en $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{OO})_2$ en reductie met H_2S
10 cc. bloed met lucht geschud + 4,92 mgr. ascorbinezuur	3,31	4,91
10 cc. bloed met CO_2 verzadigd + 4,92 mgr. ascorbinezuur	4,72	4,89
10 cc. bloed met CO verzadigd + 4,92 mgr. ascorbinezuur	4,72	4,89

Evenals bij de bepaling van ascorbinezuur in urine is het dus ook voor de bepaling in bloed strikt noodzakelijk de extracten met kwikacetaat te behandelen en met H_2S te reduceren. Hoewel de omstandigheden voor een ascorbinezuurbepaling zonder behandeling met kwikacetaat of reductie met H_2S in het bloedserum gunstiger schijnen (G a b b e (93), F a r m e r e n A b t (94)), acht ik het toch ook hierbij gewenst deze behandeling toe te passen. Immers ook in het serum kunnen andere reducerende stoffen voorkomen of kan een gedeelte van het ascorbinezuur reversibel geoxydeerd zijn (bijv. na meer of mindere haemolyse). De methode van titreren in zwak zuur milieu, die door G a b b e wordt toegepast, draagt er niet toe bij, de specificiteit der bepaling te verhogen.

De verandering, die M i r s k y c.s. (95) aan onze methode hebben aangebracht, kan ik geen verbetering noemen. Deze onderzoekers behandelen n.l. het bloedextract reeds met H_2S vóór dit gedecanteerd is van het gecentrifugeerde precipitaat. Hierdoor bestaat de mogelijkheid, dat een gedeelte van de geprecipiteerde reducerende stoffen vrijgemaakt wordt en weer in oplossing gaat.

HOOFDSTUK V

DE DAGELIJKS NODIGE HOEVEELHEID VITAMINE C HET AANTONEN VAN VITAMINE C-GEBREK

Het is nu de vraag of een bepaling van het ascorbinezuur in urine of bloed ons iets kan zeggen over de mate van verzadiging met vitamine C van een bepaald persoon. Dit zal alleen dan het geval zijn, wanneer het gehalte aan ascorbinezuur van bloed of urine afhankelijk is van de in het lichaam aanwezige hoeveelheid ascorbinezuur, dus in laatste instantie van de hoeveelheid, die met het voedsel opgenomen wordt.

Om dit te onderzoeken heb ik de volgende proef met mijzelf genomen: Gegeten werd een vitamine C-vrij diët, bestaande uit brood, boter, kaas, eieren en water. Het ascorbinezuurgehalte van het bloed werd bepaald, evenals de hoeveelheid ascorbinezuur die per etmaal met de urine werd uitgescheiden. Bij het begin van de proef werd telkens 250 mgr. ascorbinezuur per dag ingenomen en wel zólang totdat een sterk verhoogde uitscheiding in de urine optrad, dus het verzadigingspunt bereikt was. Van dit oogenblik af werd slechts het vitamine C-vrije diët gegeten en van tijd tot tijd het ascorbinezuurgehalte van het bloed en de uitscheiding van ascorbinezuur in de urine bepaald. Het moet dan blijken of deze op den duur verminderen. Is dit het geval, dan moet, wanneer er vervolgens ascorbinezuur wordt toegediend, weer een stijging optreden.

Bovendien kan er met deze proef nog iets anders bepaald

worden en wel de hoeveelheid ascorbinezuur, die dagelijks door de proefpersoon verbruikt wordt. Hierbij moet men uitgaan van de volgende redenering: Bij het begin van de proef werd zóveel ascorbinezuur toegediend, dat het verzadigingspunt bereikt is. In de vitamine-vrije periode, die dan volgt, zal de voorraad vitamine in het lichaam vermindern. Vervolgens wordt weer net zóveel ascorbinezuur toegediend, dat het verzadigingspunt weer bereikt is. Deze hoeveelheid zal gelijk zijn aan de hoeveelheid, die gedurende de vitamine-vrije periode verbruikt is. Deelt men dus dit bedrag door het aantal dagen dat diët gehouden werd, dan krijgt men het gemiddelde verbruik per dag.

Deze proef verliep als volgt (zie tabel XIII, blz. 49 en fig. 2, blz. 50): Van 29 Juli 1935 af werd het vitamine C-vrije diët gegeten en gedurende 3 dagen de uitscheiding van ascorbinezuur in de urine bepaald. Hiertoe werd de hoeveelheid geloosde urine gemeten, de tijd waarin zij geproduceerd was genoteerd, terwijl direct na lozing het ascorbinezuurgehalte **ervan bepaald werd**. Gevonden werd een uitscheiding van ± 13 mgr. per etmaal. Nu werd zolang dagelijks 250 mgr. kristallijn ascorbinezuur (opgelost in water) ingenomen, totdat er een sterk verhoogde uitscheiding in de urine optrad. Dit had plaats nadat 3×250 mgr. opgenomen waren (uitscheiding 45,6 mgr.). Ook werd bepaald hoeveel ascorbinezuur met de faeces uitgescheiden werd om te zien of soms, na het toedienen van de grote hoeveelheden ascorbinezuur, een gedeelte ervan niet geresorbeerd wordt en het darmkanaal weer verlaat ¹⁾. Uit de gegevens hierover in tabel XIII blijkt, dat dit niet het geval is. Of misschien een gedeelte van het vitamine in de darm vernietigd wordt, is moeilijk te zeggen.

¹⁾ Voor deze bepaling werd de faeces met een drievoudige hoeveelheid 3 % trichloorazijnzuur geëxtraheerd, vervolgens gecentrifugeerd. 20 cc. van het extract werden met CaCO_3 geneutraliseerd (kleurloos t.o.v. congo-papier, rood t.o.v. blauw lakmoes) en daarna met 5 cc. 20 % mercuriacetaat geprecipiteerd. Het neerslag werd afgecentrifugeerd, de bovenstaande

Verder werd het ascorbinezuurgehalte van het door venepunctie verkregen bloed bepaald. Dit was in het begin van de proef (1 Aug.) 11,2 mgr./L. Op 2 Aug. werd het bepaald 3 uur na het toedienen van de 250 mgr. ascorbinezuur (11,7 mgr./L.), evenals op 3 Aug. (16,8 mgr./L.). Op deze laatste dag steeg het gehalte dus aanmerkelijk, terwijl nu ook de uitscheiding in de urine, hoewel nog niet sterk, vermeerderd is (23 mgr.). Op 4 Aug. werd geen ascorbinezuur ingenomen. Het gehalte in het bloed daalde tot 15 mgr./L. De volgende dag (5 Aug.) werden weer 250 mgr. ingenomen en nu treedt er een grote uitscheiding van ascorbinezuur in de urine op (45,6 mgr.). Het gehalte in het bloed is (3,5 uur na het innemen van het ascorbinezuur) slechts gestegen tot 17 mgr./L. Hierna daalt het weer spoedig tot 15 mgr./L. (6 Aug.). Het blijkt dus, dat, wanneer het ascorbinezuurgehalte van het bloed boven 14 à 15 mgr. stijgt, er een verhoogde uitscheiding in de urine optreedt. Het gehalte kan tijdelijk (enige uren na het toedienen van het ascorbinezuur) wat hoger zijn (± 17 mgr./L.), maar zal, als gevolg van de ascorbinezuur-uitscheiding in de urine, weer spoedig dalen tot 14 à 15 mgr./L. Men zal dus normaliter nooit een gehalte in het bloed kunnen vinden, dat veel hoger is dan ongeveer 17 mgr./L. Vindt men dus bij een persoon een gehalte in het bloed van ongeveer 14 mgr./L. of daar boven, dan kan men hieruit de gevolgtrekking maken, dat deze met vitamine C verzadigd is (zie later).

Van 6 Aug. af wordt geen vitamine C meer opgenomen en van tijd tot tijd het ascorbinezuur in bloed en urine be-

vloeistof gedecanteerd en met H_2S doorstroomd. Verdere bewerking als bij urine beschreven.

Het is de vraag of de gevonden reducerende stof in een zo heterogeen product als faeces, identiek is met ascorbinezuur. Het ging er hier echter alleen om te constateren of er een noemenswaardige toename van reducerende stoffen in de faeces optrad na opname van grote hoeveelheden ascorbinezuur.

paald. Men ziet dan, dat de dagelijks uitgescheiden hoeveelheid langzaam vermindert en wel in 83 dagen van ± 13 mgr. tot ± 7 mgr., echter met vrij grote schommelingen. Het gehalte in het bloed daarentegen daalt in het begin vrij sterk (in 25 dagen van 15 tot ± 4 mgr./L.), later zeer langzaam (in 59 dagen van ± 4 mgr. tot ± 2 mgr./L.).

Zien wij thans wat er gebeurt wanneer er na 84 dagen vitamine C-vrij diët weer ascorbinezuur wordt toegediend (29 Oct.). Om wat sneller het verzadigingspunt te bereiken werden de eerste 4 dagen 2×250 mgr. per dag ingenomen en daarna, om het verzadigingspunt niet plotseling te overschrijden, 250 mgr. per dag, evenals bij het begin van de proef. Het blijkt dan, dat na een hoeveelheid van totaal 3250 mgr. ascorbinezuur het verzadigingspunt weer bereikt is (7 Nov. uitscheiding 35,5 mgr.). Tijdens de verzadiging stijgt zowel het ascorbinezuurgehalte van de urine als dat van het bloed. Het ascorbinezuurgehalte van het bloed werd steeds bepaald vóór de opname van de dagelijkse dosis vitamine. Ook nu ziet men weer, dat in verzadigde toestand het gehalte in het bloed 14 à 15 mgr./L. bedraagt (één dag na de verzadiging, 8 Nov., 14,4 mgr./L.).

Wanneer wij nu uit de opgenomen hoeveelheid ascorbinezuur berekenen hoe groot het verbruik per dag was gedurende de periode 6 Aug.—7 Nov., dan vinden we: opgenomen werden 3250 mgr. vermindert met de hoeveelheid, die boven de normale uitscheiding met de urine uitgescheiden werd ($= \pm 30$ mgr.), dus 3220 mgr. ascorbinezuur. De duur van de proef was 94 dagen, het verbruik per dag dus rond 34 mgr.

Deze uitkomst verschilde nogal aanzienlijk van die van een soortgelijke proef, die ik reeds in 1934 genomen had. Hierbij werd de bepaling van het ascorbinezuur in de urine echter nog niet uitgevoerd na behandeling met kwikacetaat. Toch zal dit weinig invloed gehad hebben op dat, waar het bij deze proeven op aan komt, n.l. het constateren van het verzadigingspunt, dat zich openbaart door een sterk verhoogde

TABEL XIII

Datum	mgr. ascorb. z. opgenomen	cc. urine uit- gescheiden per etmaal	mgr. ascorb. z. uitgescheiden in urine per etmaal	mgr. ascorb. z. p. liter bloed	gr. faeces	mgr. ascorb. z. in faeces	Aantal petechiae bij 50 mM. 15 min 28 cM ² links (L), rechts (R)
1935							
29-VII	—	—	—	—	—	—	—
30	—	742	13,1	—	—	—	—
31	—	875	12,4	—	—	—	—
1-VIII	—	833	13,4	11,2	175	4,6	—
2	250	929	16,6	11,7	—	—	—
3	250	780	23	16,8	120	3,6	—
4	—	793	17,2	15	140	3,8	—
5	250	769	45,6	17	143	4,3	—
6	—	675	15,8	15	140	4,1	—
7	—	754	13,7	—	76	3,2	—
8	—	—	—	—	128	3,3	—
13	—	—	—	9,6	—	—	—
17	—	1046	10,5	—	—	—	—
18	—	903	12	—	—	—	—
19	—	770	10,2	—	—	—	—
21	—	—	—	6	—	—	—
22	—	847	11,9	—	—	—	—
23	—	819	11,2	—	—	—	—
28	—	902	10,2	—	—	—	—
29	—	830	10,1	—	—	—	—
30	—	—	—	4,3	—	—	—
4-IX	—	—	—	—	—	—	L 0
7	—	910	9,2	—	—	—	—
8	—	845	8,4	—	143	4,2	—
9	—	—	—	3,7	—	—	—
13	—	855	9,1	—	—	—	—
14	—	777	8	—	—	—	L 0
15	—	790	7,6	—	—	—	—
16	—	—	—	3,1	—	—	—
23	—	713	9	2,5	—	—	—
24	—	807	8,1	—	—	—	—
28	—	889	8	—	—	—	L 2, R 1
29	—	—	—	—	142	4,7	—
1-X	—	—	—	3	—	—	—
4	—	727	6,7	—	—	—	—
9	—	769	7,8	—	—	—	—
11	—	—	—	2,3	—	—	—
12	—	—	—	—	—	—	L 3, R 2
21	—	660	7,2	2,2	—	—	—
26	—	—	—	—	—	—	R 1
28	—	789	7	1,9	145	7,4	—
29	2×250	678	8,8	—	—	—	—

TABEL XIII (Vervolg)

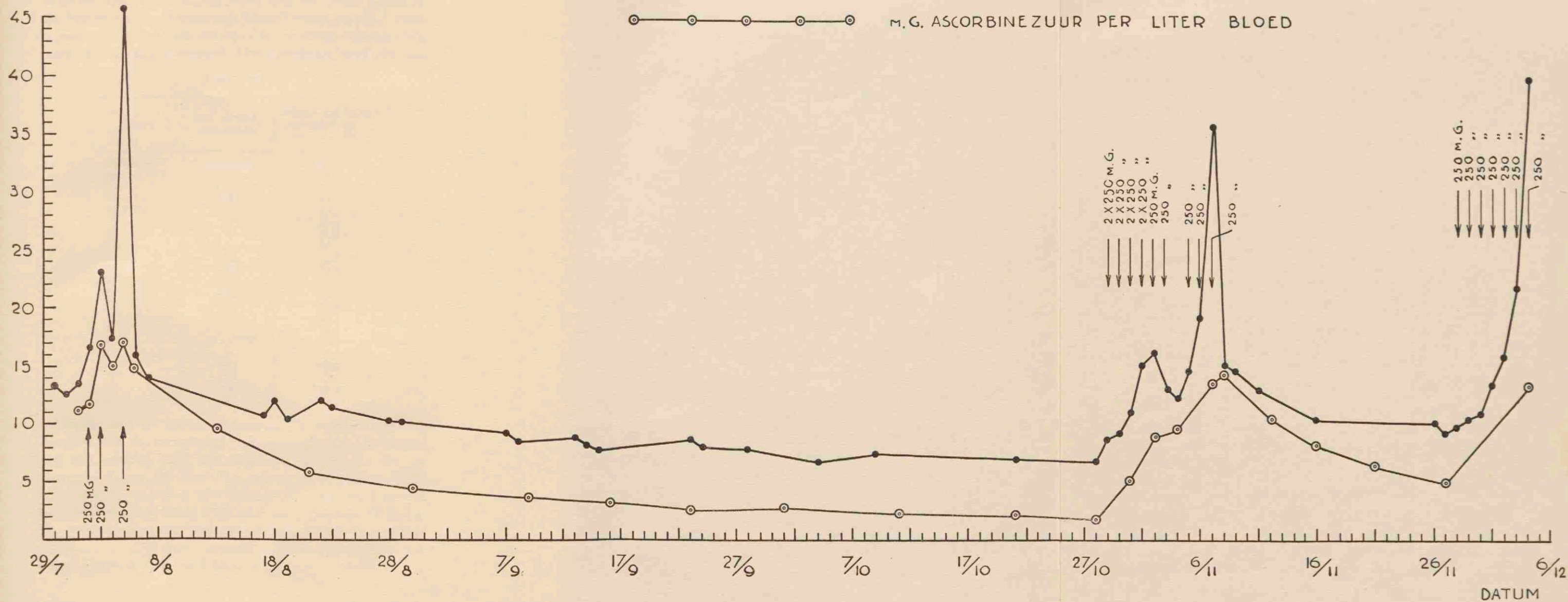
Datum	mgr. ascorb. z. opgenomen	cc. urine uit- gescheiden per etmaal	mgr. ascorb. z. uitgescheiden in urine per etmaal	mgr. ascorb. z. p. liter bloed	gr. faeces	mgr. ascorb. z. in faeces	Aantal petechiae bij 50 mM. 15 min. 28 cM ² links (L), rechts (R)
30	2×250	764	9,1	—	—	—	—
31	2×250	699	10,9	5	—	—	—
1-XI	2×250	688	15,1	—	186	8,7	—
2	250	682	15,9	8,9	—	—	—
3	250	688	12,9	—	—	—	—
4	—	678	12,2	9,4	—	—	—
5	250	656	14,5	—	—	—	—
6	250	727	19	—	—	—	—
7	250	646	35,5	13,3	—	—	—
8	—	594	15	14,4	—	—	—
9	—	761	14,4	—	—	—	—
11	—	556	12,9	—	—	—	—
12	—	—	—	10,6	—	—	—
16	—	614	10,5	8,3	—	—	—
21	—	—	—	6,6	—	—	—
26	—	625	10,1	—	—	—	—
27	—	607	9,2	5,1	—	—	—
28	250	661	9,5	—	—	—	—
29	250	728	10,3	—	—	—	—
30	250	651	10,7	—	—	—	—
1-XII	250	683	13,3	—	—	—	—
2	250	737	15,8	—	—	—	—
3	250	604	21,6	—	—	—	—
4	250	556	39,5	13,2	—	—	—

uitscheiding van ascorbinezuur in de urine. Het verloop van deze proef is af te lezen uit tabel XIV. De duur ervan was 40 dagen, de opgenomen hoeveelheid ascorbinezuur 1850 mgr., het verbruik per dag dus 46 mgr., d.w.z. 12 mgr. meer dan nu gevonden werd.

Het lag voor de hand dit verschil te verklaren uit het verschil in duur der beide proeven. Het zou toch mogelijk kunnen zijn, en zelfs waarschijnlijk, dat de verminderde uitscheiding in de urine, die optreedt na een langdurig vitamine-vrij diëet, zou wijzen op een verminderd verbruik van het

FIG. 2

M.G. ASCORBINEZUUR PER LITER BLOED



vitamine, dat dus het verbruik, althans binnen grenzen, afhankelijk is van de in het lichaam aanwezige hoeveelheid vitamine. Om dit te toetsen werd nog een proef genomen, die korter duurde. Nadat het verzadigingspunt op 7 Nov. bereikt was (tabel XIII en fig. 2), werd het vitamine-vrije diët nog een tijd voortgezet. Het ascorbinezuurgehalte van

TABEL XIV

Datum	mgr. ascorbz. opgenomen	reductie v.d. urine berekend als mgr. ascorbz.
20-VI-1934	? (aardbeien!)	102
22	—	34,7
23	—	31,5
24	200	65
18-VII	—	22
19	—	21,6
21	—	21,8
22	—	20
23	200	20,8
24	100	22,8
25	100	22,6
26	100	21,1
27	100	21,4
28	2×100	22,1
29	3×100	22,4
30	2×100+50	30,8
31	—	27
1-VIII	300	43,6
2	100	37
3	200	73,3

het bloed werd van tijd tot tijd bepaald. Er werd een aanvang gemaakt met de verzadiging toen het gehalte in het bloed nog niet extreem laag was, dus vóór de periode van de langzame daling (28 Nov., het gehalte in het bloed op 27 Nov. was 5,1 mgr./L.). Het verzadigingspunt werd bereikt na toediening van totaal 1750 mgr. ascorbinezuur (4 Dec.). Het verbruik per dag was dus: de opgenomen hoeveelheid (1750—38 = 1712 mgr.), gedeeld door het aantal dagen van de proef (= 27), is rond 63 mgr.

Het blijkt dus, dat inderdaad bij een verminderde vitamine-voorraad in het lichaam, het dagelijks verbruik ervan afneemt. In een periode van vrij goede verzadiging, zoals dat in de laatste proef het geval was, is mijn verbruik dus minstens 63 mgr. per dag (d.w.z. voor een 30-jarige man van 90 KG.). Wanneer het verbruik evenredig is met het gewicht van de mens (deze evenredigheid is voor de cavia aangetoond door Dann en Gowgill (96)), dan kan men voor het dagelijks verbruik van een volwassen persoon van 70 K.G. ongeveer 50 mgr. rekenen. Uit den aard der zaak zal deze waarde door een onderzoek bij meer personen moeten worden gecontroleerd. Eerst dan zal men een gemiddelde waarde kunnen opgeven.

Wanneer men de hoeveelheid ascorbinezuur, die dagelijks met de urine uitgescheiden wordt, vergelijkt met die welke verbruikt wordt, dan ziet men dat dit ongeveer $1/5$ van die hoeveelheid is. Hoe komt het, dat slechts zo weinig ascorbinezuur uitgescheiden wordt? Men zou echter beter kunnen vragen: hoe komt het dat er ascorbinezuur uitgescheiden wordt? Wij hebben gezien, dat alleen wanneer het ascorbinezuurgehalte van het bloed hoger wordt dan ± 14 mgr./L. er plotseling meer ascorbinezuur uitgescheiden wordt. Verder bleek er geen evenredigheid te bestaan tussen het gehalte in het bloed en dat in de urine (tijdens het vitamine-vrije diët daalde het gehalte in het bloed sneller en sterker dan in de urine; ook is er geen verband tussen de hoeveelheid uitgescheiden ascorbinezuur en de hoeveelheid uitgescheiden urine). Een eenvoudig filtratieproces in de nier is dus de uitscheiding niet. Zou misschien de uitscheiding van het vitamine in verband staan met het verbruik ervan in de nier zelf? Een antwoord op deze vragen is nog niet te geven.

Het is nu de vraag, hoe een gebrek aan vitamine C bij de mens kan worden vastgesteld, ook in die gevallen waarbij zich nog geen objectieve verschijnselen van scheurbuik voor-

doen. Zulke objectieve verschijnselen traden bijvoorbeeld niet op tijdens de boven beschreven proef, waarbij gedurende 3 maanden geen vitamine C gebruikt werd. Toch verkeerde ik aan het eind van deze periode zeker in een toestand van „précarence”. De enige verschijnselen, die optraden en die men misschien in verband kan brengen met het vitamine-gebrek, waren een gevoel van moeheid en pijnlijke ledematen (benen), benevens het zich geleidelijk ontwikkelen van een zeer slecht humeur en prikkelbare stemming. Hierop kan men echter geen diagnose „vitamine C-gebrek” stellen!

Toch is het van groot belang een methode te hebben om dergelijke toestanden van précarence op het spoor te komen. Het blijkt immers hoe langer hoe meer, en dit geldt ook voor andere vitamines, dat dan het lichaam in een toestand verkeert, waarin het makkelijk voor andere schadelijke agentia (bijv. bacteriën) toegankelijk wordt.

Zoals wij gezien hebben, vermindert bij vitamine C-gebrek het ascorbinezuurgehalte van het bloed en ook de uitscheiding van ascorbinezuur in de urine. Men zou dus zowel door bepaling van de hoeveelheid uitgescheiden ascorbinezuur, als door de bepaling van het gehalte in het bloed, inzicht kunnen krijgen in de verzadigingstoestand van een bepaald persoon. Echter lijkt mij hiervoor een bepaling in het bloed beter dan een bepaling in de urine. In de eerste plaats is dit eenvoudiger; men hoeft slechts één bepaling te doen, terwijl bij de bepaling van de uitscheiding in de urine gedurende een etmaal telkens wanneer er geurineerd wordt een bepaling gedaan moet worden en men dus zeer afhankelijk is van de proefpersoon. Ten tweede is de uitscheiding in de urine, zoals uit tabel XIII te zien is, aan vrij sterke schommelingen onderhevig (verschillen op achtereenvolgende dagen tot 20 % van de totale waarde). Hoe deze schommelingen te verklaren zijn is niet met zekerheid te zeggen. Men zou kunnen veronderstellen, dat de uitgescheiden hoeveelheid ascorbinezuur afhankelijk is van de hoeveelheid, die dagelijks in de stof-

wisseling wordt verbruikt, dat dus bij een verminderde of verhoogde stofwisseling resp. minder of meer ascorbinezuur wordt uitgescheiden. Hierop wijst het feit, dat er gedurende de nacht minder ascorbinezuur wordt uitgescheiden dan overdag (zie tabel XV).

TABEL XV

Datum	cc. urine per etmaal	mgr. as- corb.zuur p. etmaal	Uren van de dag	Gem. uitscheiding p. uur	
				cc. urine	mgr. ascor- binezuur
13-IX	855	9,1	10,00—14,30	34	0,33
			14,30—19,30	34	0,48
			19,30—22,30	51	0,46
			22,30—10,00	33	0,33
26-XI	625	10,1	10,00—18,00	32	0,41
			18,00— 1,00	32	0,57
			1,00—10,00	16	0,31
27-XI	607	9,2	10,00—17,30	24	0,37
			17,30—23,00	34	0,55
			23,00—10,00	22	0,31

De relatie tussen stofwisselingsintensiteit en ascorbinezuur-verbruik konden wij aantonen door proeven met ratten (Van Eekelen en Kooy (97)). Hierbij werd gevonden, dat het gehalte aan ascorbinezuur van lever en bijniereen verminderde, wanneer de dieren in een tredmolen sterk vermoeid werden. Ook bij koortsende ziekten (malaria) neemt het ascorbinezuurverbruik toe, evenals bij de verhoogde stofwisseling na toediening van thyrioïdine (Plaut en Bülow (98)). Deze toename manifesteerde zich in een daling van het ascorbinezuurgehalte van de weefsels en van het cerebro-spinaalvocht. Of deze toename van het verbruik ook gepaard gaat met een verhoogde uitscheiding, is niet bekend. Wel worden er in de literatuur gevallen beschreven

waarbij de uitscheiding zeer hoog is, maar aangezien de bepalingen niet gedaan werden na behandeling van de urine met mercuriacetaat, is het niet te zeggen of men met ascorbinezuur te doen heeft of wel met andere reducerende stoffen (bijv. thiosulfaten).

Wanneer echter zou blijken dat de uitscheiding afhankelijk is van de stofwisseling, dan kan men verwachten, dat er, vooral bij patiënten, grote individuele afwijkingen kunnen voorkomen. Hierover heb ik echter te weinig ervaring om er meer dan een veronderstelling over te geven. Hoe het zij, een bepaling van de hoeveelheid ascorbinezuur, die per etmaal uitgescheiden wordt, is mijns inziens geen betrouwbare methode om een oordeel te krijgen over de verzadigings-toestand met vitamine C. De bepalingen, die Von Euler en Malmberg (79) in urines van een aantal personen uit verschillende streken van Zweden gedaan hebben, zeggen mij daarom weinig. En dit niet alleen om bovengenoemde redenen, maar ook omdat de titraties niet uitgevoerd werden na behandeling met kwikacetaat. Bovendien verliep er een vrij lange tijd tussen het lozen van de urine en het opwerken ervan, zodat er, afhankelijk van de pH, meer of minder ascorbinezuur kon oxyderen. Verder bepalen zij het vitamine per liter urine, wat geen goede maat is voor de uitscheiding. De urine kan immers meer of minder geconcentreerd zijn, terwijl het ook van belang is te weten in welke periode van de dag of nacht zij geproduceerd is.

Wat nu de bepaling van het ascorbinezuur in het bloed betreft, hierdoor zal men een beter inzicht kunnen krijgen in de verzadigingstoestand. Reeds een betrekkelijk geringe afwijking van de verzadigingstoestand doet zich in het ascorbinezuurgehalte van het bloed gelden. Toch is ook deze methode niet helemaal ideaal. Immers er bestaat wel een relatie tussen het ascorbinezuurgehalte van het bloed en de in het lichaam aanwezige voorraad vitamine, maar deze verhouding is niet rechtlijnig. Men kan dus alleen zeggen: wan-

neer het gehalte in het bloed ± 14 mgr. is of daarboven dan is de betrokken persoon met vitamine verzadigd, dus in uitmuntende conditie; is het lager dan ± 4 mgr., dan is de verzadigingstoestand slecht; tussen 14 en 4 mgr. meer of minder goed. Hierbij is stilzwijgend verondersteld, dat de toestand van verzadiging voor de mens de beste is. Een geringe onderverzadiging zal echter ook nog wel goed te noemen zijn. Het blijkt evenwel, dat gedurende de zomer en herfst de meeste mensen verzadigd zijn (zie later).

Zoals reeds op blz. 36 en 36 beschreven is hebben wij een goede methode om de verzadigingstoestand te bepalen in de „verzadigingsproef”. Deze proef werd door een aantal onderzoekers toegepast om de verzadiging van de zieke of gezonde mens te bepalen (Harris en Ray (99), Abbasy c.s. (100), Ippen (101), Pinotti (102), Schroeder (81), Johnson en Zilva (77), Neuweiler (103) e.a.). Over de toepassing ervan wil ik hier nog het volgende opmerken. Harris c.s. doen de test door ineens 600—700 mgr. ascorbinezuur te geven en onderzoeken dan of de proefpersoon al of niet met verhoogde uitscheiding in de urine reageert. Ik heb bij de verzadigingsproef op mijzelf een geringere hoeveelheid dagelijks ingenomen en wel meestal 250 mgr.; alleen in de eerste dagen na de diëtperiode van 84 dagen werd per dag 500 mgr. (in twee porties van 250 mgr.) genomen. De reden, dat ik aan deze kleinere doses de voorkeur geef is de volgende. Wanneer een grote dosis ascorbinezuur opgenomen wordt, dan zal deze zeer snel door de darm geresorbeerd worden, wat blijkt uit het feit, dat wanneer het lichaam verzadigd is, reeds na 3 uur de grootste hoeveelheid met de urine uitgescheiden wordt. Verder is uit mijn proeven gebleken, dat eerst dan ascorbinezuur door de nier uitgescheiden wordt, wanneer het gehalte in het bloed ongeveer 14 mgr./L. bedraagt. Wanneer nu plotseling een zeer grote dosis (700 mgr.) gegeven wordt, dan zal de kans

bestaan, dat zelfs wanneer het lichaam nog lang niet verzadigd is, door de snelle resorptie het gehalte in het bloed snel zal stijgen, terwijl de weefsels het vitamine niet zó vlug uit het bloed kunnen opnemen, dat het gehalte in het bloed lager blijft dan 14 mgr./L. Het gevolg zal dan zijn: een uitscheiding door de nier. Dat deze beschouwing met de werkelijkheid overeenkomt blijkt uit het verloop van de uitscheidingskromme (fig. 2) op 1 en 2 Nov. Na de dosis van twee maal 250 mgr. op 1 Nov. stijgt de uitscheiding van 10,9 mgr. tot 15,1 mgr. Op 2 Nov. na de dosis van 250 mgr. tot 15,9, de daarop volgende dag is de uitscheiding op een dosis van 250 mgr. echter weer minder n.l. 12,9 mgr. Zou ik op 2 Nov. dus inplaats van 250 mgr. weer twee maal deze hoeveelheid ingenomen hebben, dan zou de uitscheiding waarschijnlijk veel hoger geweest zijn, hoewel het verzadigingspunt nog niet bereikt is. Ik heb trouwens bij deze verzadigingsproef, ook bij de dosering van 500 mgr. per dag, er rekening mee gehouden, dat zou kunnen blijken dat dit te veel is; daarom werd deze hoeveelheid in twee porties gegeven, elk van 250 mgr.

Wat het verzadigingspunt zelf betreft, dit is relatief. Het wil niet zeggen, dat dan de weefsels geen vitamine meer kunnen opnemen. Bij de bovenbeschreven proef (tabel XIII en fig. 2) zou men bijvoorbeeld kunnen zeggen, dat op 3 Aug., 6 Nov. en 3 Dec., met een uitscheiding van resp. 23, 19 en 21,6 mgr. ascorbinezuur, het verzadigingspunt al bereikt is. Toch blijkt, dat van een daarna gegeven dosis van 250 mgr. ascorbinezuur slechts resp. 45,6, 35,5 en 39,5 mgr. uitgescheiden worden, dus nog resp. 203,4, 214,5 en 210,5 mgr. door het lichaam opgenomen of verbruikt worden. Deze toestand heb ik in mijn proeven het verzadigingspunt genoemd. Zou daarna nogmaals ascorbinezuur gegeven zijn, dan zou de uitscheiding weer groter geworden zijn, de opname in het lichaam geringer. Ten slotte zou, zo voortgaande, het lichaam dermate verzadigd zijn, dat vrijwel de gehele dosis

opgenomen ascorbinezuur uitgescheiden wordt. Eerst dan zou men kunnen spreken van een absolute verzadiging. Ook hier doet zich weer het boven beschreven verschijnsel voor, dat de snelheid, waarmee het ascorbinezuur door de weefsels opgenomen wordt, geen gelijke tred kan houden met de snelle resorptie uit de darm.

Willen wij dus een definitie geven van het „verzadigingspunt”, dan zou die moeten luiden: de toestand van de weefsels, waarin, na toediening van een *bepaalde* hoeveelheid ascorbinezuur, een *bepaalde* hoeveelheid ervan, boven de normale dagelijkse uitscheiding, door de nier wordt uitgescheiden. Hieraan moet echter worden toegevoegd, dat een dag na de verhoogde uitscheiding, het ascorbinezuurgehalte van het bloed de grens moet hebben bereikt, waarboven uitscheiding door de nier optreedt.

Plaut en Bülow vonden, dat het ascorbinezuurgehalte van het cerebro-spinaalvocht afhankelijk is van de voedings-toestand met vitamine C. Zij zien in de bepaling van dit gehalte, een goede methode om gevallen van précaréncie op het spoor te komen. Deze kan echter alleen van nut zijn voor patiënten met neurologische afwijkingen, waarbij ook om andere redenen lumbaalpunctie gedaan wordt. Zij vinden geen correlatie tussen voedingstoestand en het ascorbinezuurgehalte van het bloed. Dit moet echter toegeschreven worden aan de verkeerde bepalingsmethode, die zij voor bloed toepassen (n.l. zonder behandeling met mercuriacetaat). (Plaut en Bülow (104) (105) (106) (107)).

Vervolgens moet nog een methode besproken worden, die de laatste tijd nogal eens toegepast is om beginnende scheurbuik te diagnostiseren. Deze bestaat hierin, dat de resistentie der huidcapillairen van de arm bepaald wordt. Deze resistentie vermindert bij vitamine C-gebrek, wat tenslotte voert tot de voor scheurbuik typische bloedingen. De methode

van onderzoek is gebaseerd op het verschijnsel, dat het eerst door Rumpel (108) en Leede (109) bij de scarlatina beschreven is: wanneer de resistentie der capillairen gering is, dan kan men — door met een armmanchet, zoals die voor bloeddrukmeting gebruikt wordt, een druk uit te oefenen, die lager is dan de diastolische bloeddruk — op de arm puntvormige huidbloedinkjes, z.g. petechiae verwekken. Door Hess en Fish (110) is dit verschijnsel het eerst gebruikt om gevallen van subklinische scheurbuik te diagnostiseren. Zij wezen er echter op, dat ook bij andere ziekten een verminderde weerstand der capillairen kan optreden, zodat deze test niet specifiek is voor vitamine C-gebrek. Na Hess en Fish is de methode nog toegepast door Öhnell (111), terwijl daarna Göthlin (112) (113), hoewel hij wist dat de test niet specifiek is, getracht heeft er een quantitative methode van te maken:

Wanneer er een druk van 50 mM. kwik gedurende 15 min. wordt uitgeoefend en er dan, op een oppervlakte van 28 cM.² in de elleboogsholte, minder dan 5 petechiae optreden, noemt hij dit normaal, van 5 tot 8 intermediair, boven 8 abnormaal. Op deze wijze heeft hij een groot aantal personen onderzocht en in een belangrijk percentage der gevallen subklinische scheurbuik vastgesteld (Falk, Gedda en Göthlin (114)). Daarna hebben verschillende onderzoekers de methode gebruikt, hetzij op de manier als Göthlin aangegeven heeft, hetzij op de wijze als door Dalldorf (115) (116) beschreven is, waarbij door middel van een zuigklokje, een negatieve druk op de huid wordt uitgeoefend. (Gedda (117), Stocking (118), Greene (119), Nordemark (120), Schultzer (121), Billing (122), Geschwind en Rundquist (123), Perry (124)).

Ik heb met de methode van Göthlin onderzocht of de resistentie van mijn capillairen verminderde gedurende mijn diëetproef. Het bleek (zie tabel XIII, blz. 49), dat het aantal petechiae tijdens deze proef niet of nauwelijks toenam, in

elk geval normaal bleef volgens de door Göthlin gebruikte schaal, hoewel toch mijn verzadigingstoestand met vitamine C slecht te noemen was. Ook in een onderzoek bij een vijftigtal personen, waarvan Dr. Folp m e r s de resistentie der capillairen en ik het ascorbinezuurgehalte van het bloed bepaalde, werd in de meeste gevallen tussen deze beide geen correlatie gevonden. Vaak kon dan door het toedienen van ascorbinezuur geen vermindering van het aantal petechiae verkregen worden. De verminderde weerstand der capillairen had hier dus een andere oorzaak dan vitamine C-gebrek. Wij sluiten ons dan ook aan bij het oordeel van Hess (125), Greene (119) en Perry (124), dat de bepaling van de resistentie der capillairen geen deugdelijke methode is om gevallen van subklinische scheurbuik te diagnostiseren. Binnenkort zal hierover uit ons laboratorium nog nader bericht worden door Drs. D e g g e l e r, die met een analoog onderzoek bezig is.

Ten slotte zij vermeld, dat Göthlin (126) (127) de minimum hoeveelheid ascorbinezuur bepaald heeft, die iemand dagelijks moet gebruiken om zich te behoeden voor de eerste verschijnselen van scheurbuik, d.w.z. voor vermindering van de resistentie der capillairen. Dit zou voor een persoon van 60 KG. 19 tot 27 mgr. zijn. Deze waarde is in goede overeenstemming met die, welke ik gevonden heb als gemiddeld verbruik voor een lange vitamine C-vrije periode, waarin het aantal petechiae nog normaal bleef. Dit was voor mij 34 mgr., dus voor iemand van 60 KG. ongeveer 23 mgr. Zoals boven beschreven is, wordt, wanneer meer vitamine ter beschikking staat, veel meer verbruikt.

Nu berekend is, dat de volwassen mens van 70 KG. ongeveer 50 mgr. vitamine C per dag nodig heeft, kunnen wij uitmaken of de hoeveelheid ascorbinezuur, die door vertegenwoordigers van verschillende bevolkingsgroepen in ons land dagelijks opgenomen wordt, voldoende is om dit verbruik te

dekken ¹⁾). Ik wil er hier echter nogmaals op wijzen, dat de berekening van dit verbruik berust op slechts één proef, die ik bij mijzelf genomen heb. De waarde van 50 mgr. is dus nog wat onzeker.

Beschouwen wij eerst de Zaandamse gezinnen (tabel VI, blz. 32). Hierbij ziet men, dat de gemiddelde waarden voor het gebruik van de drie groepen slechts weinig verschillen: groep I heeft het laagste, groep II het hoogste gebruik. Verder blijkt dat de aardappel bijna steeds het grootste deel van het ascorbinezuur levert. Daarnaast zijn het de vruchten (sinaasappel!), die vooral in winter en voorjaar de bron zijn van het vitamine. Het gebruik van sinaasappels in deze gezinnen is zelfs zó groot, dat daardoor in de meeste gevallen juist in de winter het meeste vitamine wordt opgenomen. Bij de gezinnen is er slechts één (Nr. 8), dat minder gebruikt dan 50 mgr. per mandsdag, en dit alleen maar in het voorjaar.

Wat de plattelandsbevolking betreft (tabel VII, blz. 33), de Groningse en Drentse boeren krijgen, dank zij het grote aardappelverbruik, vrijwel steeds voldoende vitamine C. Alleen wanneer er, zoals Den Hartog opmerkt, in de tijd, dat de aardappels slecht van kwaliteit worden, in plaats hiervan bonen en erwten gegeten worden, zal er een korte periode zijn dat er te weinig vitamine opgenomen wordt.

Bij de Westzaanse boeren is de toestand iets ongunstiger. Wanneer deze, zoals ik misschien ten onrechte verondersteld heb, in het voorjaar geen vruchten eten, dan zullen zij gedurende deze tijd ongeveer 10 mgr. per dag te weinig gebruiken.

¹⁾ Eén deel van onze bevolking zal ik hier helemaal buiten beschouwing laten en wel de zuigelingen en jonge kinderen. Het zal zeker de moeite lonen, hierbij de opname en het verbruik van vitamine C te bestuderen, te meer omdat hun voeding door samenstelling of bereiding gauw een deficit aan vitamine C kan hebben (pap, gepasteuriseerde melk), terwijl daarnaast gegevens uit de literatuur erop wijzen, dat het kind relatief veel meer vitamine nodig heeft dan de volwassene.

Men zou dus uit deze gegevens de gevolgtrekking kunnen maken, dat onze bevolking vrijwel gedurende het gehele jaar voldoende vitamine C eet en dat zij zelfs meestal in een toestand van verzadiging zal verkeren, gezien het feit, dat het dagelijks gebruik meestal veel groter is dan 50 mgr. (tot $\pm$ 150 mgr. toe). Wanneer er dus in het voorjaar een korte periode mocht zijn, waarin minder dan 50 mgr. per dag opgenomen worden, dan zal gedurende deze tijd geteerd kunnen worden op een groot dépôt, dat in zomer en najaar aangelegd wordt. Het gaat er dus voornamelijk om of deze tijd niet te lang en de verzadigingstoestand van het lichaam dus niet te ongunstig wordt.

In dit verband zij opgemerkt, dat door de voeding, zoals die in 1929/1930 door de Zaandammers gebruikt werd en die in alle opzichten uitstekend te noemen is, nooit een periode van deficit zal ontstaan. Het zeer grote gebruik van vruchten in winter en voorjaar zal dit voorkomen. Ik betwijfel het echter ten sterkste of in andere steden, vooral tegenwoordig, evenveel vruchten gegeten worden. Hierbij heb ik in de eerste plaats het oog op het tegenwoordig zo grote aantal steuntrekkende werklozen. Hun financiën laten het niet toe vruchten te kopen ¹⁾. Maar ook onder de beter gesitueerden zijn er steeds nog vrij veel, waarvoor het kopen van vruchten een luxe betekent, die zij zich niet veroorloven.

Deze beide categorieën zullen dus ongeveer een hoeveelheid vitamine C gebruiken, die overeenkomt met die van de Zaandammers, verminderd met de waarden, die berekend werden voor vruchten. Maakt men deze berekening voor de Zaan-damse gezinnen, dan blijkt dat er dan een groter aantal

¹⁾ In verschillende steden wordt de laatste tijd een onderzoek ingesteld naar de voedingstoestand van de werklozen. Het zal daarbij van belang zijn ook de geconsumeerde hoeveelheid vitamine C te berekenen. Dit wordt voor de Utrechtse werklozen reeds gedaan. Aangezien dit onderzoek nog niet afgesloten is, acht ik mij niet gerechtigd hierover thans reeds cijfers mee te delen.

zouden zijn, die, vooral in het voorjaar, minder dan 50 mgr. per mandsdag gebruiken (in het voorjaar 14, in de zomer 1, in de winter 3 gezinnen). Maar ook dan zal een tijdelijk tekort weer spoedig aangevuld worden, zodra er weer nieuwe aardappels met een hoog vitaminegehalte kunnen worden gegeten.

Wanneer mijn veronderstelling juist is, dat de dagelijks nodige hoeveelheid vitamine C voor de volwassen mens ongeveer 50 mgr. bedraagt, dan zou uit het bovenstaande moeten volgen, dat er in het voorjaar een aantal personen zullen worden gevonden, die niet met ascorbinezuur verzadigd zijn, terwijl in zomer en najaar de meesten wel verzadigd zullen zijn. Ik heb dit onderzocht door in verschillende tijden van het jaar bij een aantal gezonde personen het ascorbinezuurgehalte van het bloed te bepalen. Wanneer een laag gehalte gevonden werd, dan werd door het toedienen van een extra hoeveelheid ascorbinezuur (100 mgr. per dag) boven het normale diët, nagegaan of het gehalte dan steeg; dit om te zien of het lage gehalte van het bloed steeds een gevolg was van een tekort aan ascorbinezuur. De resultaten van dit onderzoek zijn samengevat in de volgende tabel (tabel XVI).

Uit deze tabel blijkt, dat inderdaad en wel de meeste van de onderzochte personen, zowel uit de minder als uit de beter gesitueerde kringen, in de periode April tot half Juli, niet verzadigd zijn met vitamine C. Van Juli af zijn er hoe langer hoe meer in verzadigde toestand of daaromtrent. Hierdoor wint mijn veronderstelling, dat door de volwassen mens ongeveer 50 mgr. vitamine C per dag worden verbruikt, aan waarschijnlijkheid.

Verder blijkt, dat het ascorbinezuurgehalte van het bloed steeds steeg, wanneer een extra hoeveelheid ascorbinezuur werd toegediend. Ook hier zien wij weer, dat het gehalte in het bloed niet stijgt boven ± 18 mgr./L. Hierbij moet worden opgemerkt, dat de venepuncties meestal gedaan werden in de

TABEL XVI

Nr.	Datum onderzoek	Geslacht	Leeftijd (jaren)	mgr. as- corbz. per liter bloed	mgr. ascorbinezuur extra opgenomen
Minder gesitueerden					
1	15-IV	vr.	11	4,5	
2	15-IV	vr.	43	3	
3	22-V	m.	13	4,8	
idem	19-VI			19,1	1500
4	28-V	vr.	6	3,3	
5	28-V	vr.	31	4,7	
idem	19-VI			12,2	1500
6	29-V	m.	5	6	
idem	19-VI			17,1	1300
7	29-V	vr.	6	5	
idem	19-VI			17,9	1300
8	5-VI	vr.	33	4,8	
9	12-VI	vr.	42	2,8	
idem	1-VII			18,3	
idem	24-VII			17,8	
10	12-VI	vr.	12	4,3	
11	12-VI	vr.	9	4,3	
12	20-VI	m.	62	<0,6	
idem	27-VI			3,5	gedurende 14 dagen 3 à 4 citroenen en sinaasappels en 150 mgr. ascorbz. p. dag
idem	5-VII			6,7	
13	26-VI	vr.	11	2,8	
idem	24-VII			14,7	1900
idem	8-XI			3,6	
idem	9-XII			13,3	1100
14	3-VII	m.	65	3,1	
15	10-VII	vr.	44	17,3	
16	10-VII	m.	15	18,2	
17	10-VII	vr.	42	2,3	
idem	7-VIII			17,5	1300
18	10-VII	m.	53	3,4	
19	30-VIII	m.	46	4,4	
idem	19-IX			15	
20	11-IX	m.	13	13,7	
21	18-IX	m.	32	16,5	
22	28-IX	m.	38	6,9	
23	2-X	vr.	40	15,3	
24	9-X	vr.	40	7	
25	16-X	vr.	23	12,6	
26	23-X	m.	40	5	
27	30-X	m.	50	6,1	
28	30-X	m.	20	7,8	
29	6-XI	m.	12	8,3	
30	6-XI	vr.	32	12,3	

TABEL XVI (Vervolg)

Nr.	Datum onderzoek	Geslacht	Leeftijd (jaren)	mgr. as- corbz. per liter bloed	mgr. ascorbinezuur extra opgenomen
31	6-XI	m.	34	10,3	
32	13-XI	m.	39	9,2	
33	20-XI	m.	9	12,4	
34	4-XII	m.	9	9,1	
35	10-XII	vr.	9	8,3	
36	10-XII	m.	13	11,1	
37	10-XII	vr.	11	3,9	
38	18-XII	m.	13	14,4	
Beter gesitueerden					
39	17-IV	m.	29	14	
40	21-V	m.	24	6,2	
idem	20-IX			14	
41	5-VI	m.	25	4,7	
idem	3-VII			12,2	2200
42	5-VI	vr.	25	4,7	
idem	19-VI			8,1	900
43	5-VI	m.	25	5,1	
idem	19-VI			6,9	900
idem	20-IX			7,5	
44	5-VI	m.	48	4,9	
idem	19-VI			7,7	1100
idem	20-IX			12	
45	26-VI	vr.	30	24,4	
idem	4-VII			18,3	
idem	5-X			12,8	
46	1-VII	m.	22	6,5	
47	9-X	vr.	25	6,3	
48	4-XII	m.	45	13	

namiddag. Vooral de minder gegoeden gebruikten hun warme maaltijd 's middags. Zijn hierbij dan personen, die met ascorbinezuur verzadigd zijn, dan zullen die in de loop van de middag een boven de verzadigingsgrens gelegen gehalte in het bloed hebben en ascorbinezuur in verhoogde mate met de urine uitscheiden. Slechts in één geval werd een extreem hoge waarde gevonden (Nr 45, 24,4 mgr./L.). Dit betrof iemand, die een diëet gebruikte, dat vrijwel uitsluitend uit vruchten

bestond. Nadat enige dagen een normaal voedsel gegeten was, daalde het gehalte tot 18,3.

De bepalingen onder Nr 12 hebben betrekking op een zwaar geval van scheurbuik. Toen het gehalte in het bloed 6,7 mgr./L. bedroeg, was de patiënt dermate genezen, dat hij het ziekenhuis kon verlaten. Het zou beter geweest zijn als de verzadiging met ascorbinezuur nog een poos voortgezet was, totdat het gehalte in het bloed zijn maximale grens bereikt zou hebben.

Vooraf bij kinderen kan de mogelijkheid zich voordoen, dat door gebrek aan eetlust te weinig vitamine C wordt opgenomen. Met zo'n geval hebben wij te doen onder Nr 13.

Ik wil hier nog de bepalingen noemen van Menon (128), die in Voor-Indië volgens onze methode het ascorbinezuur-gehalte van het bloed onderzocht van een tiental personen en daarbij waarden vond, die liggen tussen 7,1 en 12,7 mgr./L., wat dus wijst op een vrij goede voedingstoestand met vitamine C.

Ten slotte zij vermeld, dat Ippen (101), met behulp van de verzadigingstest, de verzadiging van een aantal personen in Zwitserland onderzocht. Ook hij vond gedurende de zomer een betere verzadigingstoestand dan in de winter.

Hieruit moet dus de gevolgtrekking worden gemaakt, dat het wenselijk zou zijn, als een belangrijk deel van onze bevolking, vooral in het voorjaar, wat meer vruchten (sinaas-appels) at. Wij kunnen nu ook ten volle begrijpen, wat Van Beverwijck (129) in 1642 schreef, toen de aardappel als volksvoedsel onbekend was en er in winter en voorjaar geen vruchten te krijgen waren:

„de Blauw-Schuyt, een sieckte by ons soo gemeen,
datter naeulicx een mensche gevonden wert, ofte hy
en is daer luttel, ofte veel mede besmet.”

SAMENVATTING

Door titratie met 2,6 dichloorphenolindophenol, volgens de door Emmérie verbeterde methode van Tillmans, werd het gehalte aan vitamine C van een aantal vruchten en toebe-reide voedingsmiddelen bepaald.

Met deze gegevens werd aan de hand van de voedings-tabellen van Banning, Hornstra en Den Hartog, berekend hoeveel vitamine C door personen uit verschillende welstandsklassen in Nederland, in verschillende tijden van het jaar, dagelijks wordt gegeten. Deze hoeveelheid varieert tus-sen 40 en 155 mgr. In het voorjaar wordt minder vitamine C opgenomen dan in de zomer en winter. Het blijkt, dat de aardappel de belangrijkste bron is van het vitamine, daarnaast de groenten en vooral in winter en voorjaar de vruchten (sinaasappels).

Bij een proefpersoon (man, 30 jaar, 90 KG.) werd de hoeveelheid vitamine C bepaald, die dagelijks in de stofwis-seling wordt verbruikt. Deze bleek afhankelijk te zijn van de in het lichaam beschikbare hoeveelheid vitamine C, en varieerde tussen 34 en 63 mgr. Hieruit zou volgen, dat een volwassen persoon van 70 K.G., in optimale omstandigheden, ongeveer 50 mgr. per dag verbruikt.

De bepaling van vitamine C in bloed en urine wordt be-sproken. Het blijkt noodzakelijk deze lichaamsvloeistoffen, vóór de titratie met 2,6 dichloorphenolindophenol, te behan-delen met mercuriacetaat om andere reducerende stoffen (glutathion, ergothioneine, cysteine) te verwijderen. In de urine van sommige diabetespatiënten werd in relatief grote concentratie een stof gevonden, die 2,6 dichloorphenolindo-phenol in zuur milieu reduceert en niet identiek is met vita-mine C. Waarschijnlijk is het een thiosulfaat. Door precipita-tie met mercuriacetaat of bariumacetaat kan het van vitamine C gescheiden worden.

Bij bovengenoemde proefpersoon werd het vitamine C-gehalte van het bloed en de uitscheiding van vitamine C in de urine bepaald na toediening van grote hoeveelheden van het vitamine en tijdens een vitamine C-vrij diëet, dat maximaal 84 dagen duurde. Er werd gevonden, dat, wanneer het gehalte in het bloed hoger wordt dan ± 14 mgr./L., een verhoogde uitscheiding door de nier optreedt. Tijdens deze uitscheiding kan het gehalte in het bloed hoger zijn dan 14 mgr./L. De hoogste waarde, die gevonden werd was 24,4 mgr./L., meestal is er geen grotere stijging dan tot 17 à 18 mgr./L. Tijdens het vitamine-vrije diëet daalde het gehalte in het bloed in 25 dagen van 15 mgr./L. tot ± 4 mgr./L., in de volgende 59 dagen van ± 4 mgr./L. tot ± 2 mgr./L. De uitscheiding per etmaal in de urine verminderde in 84 dagen van ± 13 mgr. tot ± 7 mgr., echter met vrij grote schommelingen.

De methodes voor het diagnostiseren van subklinische scheurbuik worden besproken. Als goede methodes komen in aanmerking:

1. De „verzadigingstest”, zoals die het eerst door Harris c.s. en ons beschreven is. Te grote doses in eens moeten hierbij worden vermeden.

2. De bepaling van het vitamine C-gehalte van het bloed. Minder goed is de bepaling van de uitscheiding van vitamine C in de urine. De bepaling van de resistentie der capillairen (Göthlin, Dalldorf) blijkt geen betrouwbare methode te zijn.

Door het feit, dat de hoeveelheid vitamine C, die de volwassen mens dagelijks nodig heeft, vrij groot is, kan men verwachten, dat er vooral in het voorjaar een aantal personen zijn, die in een toestand van onderverzadiging verkeren. In de zomer en herfst zal dit in mindere mate het geval zijn.

Uit bepalingen van het vitamine C-gehalte van het bloed van 47 personen uit verschillende welstandsklassen, blijkt dat dit inderdaad het geval is.

SUMMARY

The vitamin C content of a number of fruits and cooked foodstuffs was estimated by titration with 2,6 dichlorophenol-indophenol after Tillmans's method as modified by Emmerie.

We have calculated from these results and from the foodtables of Banning, Hornstra and Den Hartog, the daily intake of vitamin C by men of different welfare. This quantity varies between 40 and 155 mgr. In spring less vitamin C is consumed than in summer and winter. Besides vegetables the potato proved to be the most important source of the vitamin; in winter and spring fruits (oranges) will be important sources.

The daily requirement of vitamin C was estimated on an adult (30 years old, bodyweight 90 KG.). This quantity proved to be dependent on the amount of vitamin C stored in the body and varied between 34 and 63 mgr. From this it may be concluded that an adult of 70 KG. uses about 50 mgr. daily under optimal conditions.

The determination of vitamin C in blood and urine has been discussed. It is necessary to treat these bodyfluids with mercuric acetate to remove interfering reducing substances (glutathione, cysteine and ergothioneine). In the urine of some diabetics a substance was found in relatively large concentration, which reduced 2,6 dichlorophenolindophenol in acid medium and which was not identical with vitamin C. In all probability it is thiosulfate, which can be separated from vitamin C by precipitation with mercuric acetate or barium acetate.

The ascorbic acid content of the blood and the excretion of ascorbic acid in the urine were determined after large gifts of ascorbic acid and at a scorbutic diet during 84 days on the person above mentioned. An increased excretion through the kidney results when the concentration in the blood rises above ± 14 mgr./L. During this excretion the concentration in the blood can rise above 14 mgr./L. The highest value ever found was 24,4 mgr./L. but generally it did not exceed 17—18 mgr./L. During the scorbutic diet the concentration in the blood decreased in 25 days from 15 mgr./L. to ± 4 mgr./L. in the next 59 days from ± 4 mgr./L. to ± 2 mgr./L. The daily urinary excretion decreased in these 84 days from ± 13 mgr. to ± 7 mgr., with relatively large fluctuations however.

The methods for diagnosis of subclinical scurvy have been discussed. Reliable methods are:

1. The "saturation test", which has been described by Harris et al. and by ourselves. Too large doses at once must be avoided.

2. The estimation of the ascorbic acid content of the blood.

The determination of the urinary excretion of ascorbic acid is less trustworthy. The capillary resistance test (Göthlin, Daldorf) has proved to be unreliable.

By the fact that the quantity of ascorbic acid necessary for the human adult is relatively high, one can expect that in our country specially in spring there will be a number of individuals who are unsaturated with the vitamin. In summer and autumn this will occur to a less extend. Determinations of ascorbic acid in the blood of 47 individuals of different welfare have shown that this supposition holds true.

LITERATUUR

1. Lind. A treatise on the Scurvy, London, 2e dr. (1757).
2. Augustijn. Dissertatie, Amsterdam (1932).
3. Barlow. Med. Chirurg. Transact., London, 66, 159 (1883); herdrukt in Arch. Dis. in Childh. 10, 223 (1935).
4. De Bruin. Ned. T. v. Geneesk. (1893) I, 269.
5. Kooperberg. Ned. T. v. Geneesk. (1893) I, 648.
6. De Bruin. Ned. T. v. Geneesk. (1893) II, 345.
7. Holst en Frölich. J. Hyg. 7, 634. (1907).
8. Holst en Frölich. Z. Hyg. Infektionskr. 72, 1 (1912).
9. Fürst. Z. Hyg. Infektionskr. 72, 121 (1912).
10. Zilva. Biochem. J. 17, 410 (1923).
11. Kellie en Zilva. Biochem. J. 29, 1028 (1935).
12. Zilva. Biochem. J. 18, 632 (1924).
13. Zilva. Biochem. J. 21, 689 (1927).
14. Zilva. Biochem. J. 22, 779 (1928).
15. Zilva. Biochem. J. 23, 1199 (1929).
16. Zilva. Biochem. J. 24, 1687 (1930).
17. Tillmans. Z. Unters. Lebensmitt. 60, 34 (1930).
18. Tillmans, Hirsch en Dick. Z. Unters. Lebensmitt. 63, 267 (1932).
19. Tillmans, Hirsch en Hirsch. Z. Unters. Lebensmitt. 63, 1 (1932).
20. Tillmans, Hirsch en Jackisch. Z. Unters. Lebensmitt. 63, 241 (1932).
21. Tillmans, Hirsch en Jackisch. Z. Unters. Lebensmitt. 63, 276 (1932).
22. Tillmans, Hirsch en Silbert. Z. Unters. Lebensmitt. 63, 21 (1932).
23. Tillmans, Hirsch en Vaubel. Z. Unters. Lebensmitt. 65, 145 (1933).
24. Szent—Györgyi. Biochem. J. 22, 1387 (1928).
25. Svirbely en Szent—Györgyi. Nature (1932). 576, 690.
26. Svirbely en Szent—Györgyi. Biochem. J. 26, 865 (1932).
27. Tillmans en Hirsch. Biochem. Z. 250, 312 (1932).
28. King en Waugh. Science, 75, 357 (1932).
29. Waugh en King. J. Biol. Chem. 97, 325 (1932).

30. Szent—Györgyi en Haworth. *Nature*, **131**, 24 (1933).
31. Herbert, Hirst, Percival, Reynolds en Smith. *J. Chem. Soc.* 1270 (1933).
32. Reichstein, Grüssner en Oppenauer. *Nature*, **132**, 280 (1933).
33. Reichstein, Grüssner en Oppenauer. *Helv. Chim. Acta*. **16**, 1019 (1933).
34. Reichstein en Grüssner. *Helv. Chim. Acta*. **17**, 311 (1934).
35. Ault, Baird, Carrington, Haworth, Herbert, Hirst, Percival, Smith en Stacey. *J. Chem. Soc.* 1419 (1933).
36. Svirbely en Szent—Györgyi. *Biochem. J.* **27**, 279 (1933).
37. Birch, Harris en Ray. *Nature*, **131**, 273 (1933).
38. Birch, Harris en Ray. *Biochem. J.* **27**, 590 (1933).
39. Harris en Ray. *Biochem. J.* **27**, 303 (1933).
40. Wolff, Van Eekelen en Emmerie. *Acta Brev. Neerl.* **3**, 44 (1933).
41. Emmerie. *Biochem. J.* **28**, 268 (1934).
42. Emmerie en Van Eekelen. *Biochem. J.* **28**, 1153 (1934).
43. Martius en Von Euler. *Biochem. Z.* **271**, 9 (1934).
44. Van Eekelen en Ruysen. *Pharm. Tijdschr.* (1934), 149.
45. Tauber en Kleiner. *J. Biol. Chem.* **110**, 559 (1935).
46. Dewjatnin en Doroschenko. *Biochem. Z.* **280**, 118 (1935).
47. Bezssonoff. *Un réactif des Vitamines, etc.*, Nancy (1934).
48. Karrer, Salomon, Morf en Schöpp. *Biochem. Z.* **258**, 4 (1933).
50. Franken. *Dissertatie*, Delft (1934).
51. Fujita, Iwatake en Miyata. *Biochem. Z.* **277**, 296 (1935).
52. Martini en Bonsignore. *Biochem. Z.* **273**, 170 (1934).
53. Huszak. *Z. physiol. Chem.* **222**, 229 (1933).
54. Emmerie. *Acta Brev. Neerl.* **4**, 141 (1934).
55. Svirbely. *Biochem. J.* **29**, 1547 (1935).
56. De Caro en Giani. *Z. physiol. Chem.* **228**, 13 (1934).
57. Van Eekelen. *Acta Brev. Neerl.* **5**, 41 (1935).
58. Bowden en Snow. *Nature* **129**, 720 (1932).
59. Van Eekelen, Emmerie, Josephy en Wolff. *Klin. Wschr.* (1934), 564.
60. Plaut, Bülow en Pruckner. *Z. physiol. Chem.* **234**, 131 (1935).
61. Szent—Györgyi en Vietorisz. *Biochem. Z.* **233**, 236 (1931).
62. Szent—Györgyi. *J. Biol. Chem.* **90**, 385 (1931).
63. Tauber en Kleiner. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* **32**, 577 (1935).

64. Tauber, Kleiner en Mishkind. *J. Biol. Chem.* **110**, 211 (1935).
65. Mc. Henri en Graham. *Biochem. J.* **29**, 2013 (1935).
66. Van Wijngaarden. *Dissertatie*, Utrecht (1935).
67. Banning. *Dissertatie*, Utrecht (1931).
68. Banning. *Ned. T. v. Geneesk.* (1931), 5620.
69. Hornstra. *Ned. T. v. Geneesk.* (1932), 4148.
70. Den Hartog. *Ned. T. v. Geneesk.* (1935), 2794.
71. Van der Walle. *Dissertatie*, Utrecht (1922).
72. Von Euler en Klussmann. *Ark. Kemi* **11**, Nr. 7 (1933).
73. Van Eekelen, Emmerie, Josephy en Wolff. *Nature* **132**, 315 (1933).
74. Van Eekelen, Emmerie, Josephy en Wolff. *Acta Brev. Neerl.* **8**, 168 (1933); *Ned. T. v. Geneesk.* (1934), 736.
75. Harris, Ray en Ward. *Biochem. J.* **27**, 2011 (1933).
76. Hess en Benjamin. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* **31**, 855 (1934).
77. Johnson en Zilva. *Biochem. J.* **28**, 1393 (1934).
78. Von Euler en Malmberg. *Sv. Kem. Tidskr.* **47**, 55 (1935).
79. Von Euler en Malmberg. *Biochem. Z.* **279**, 338 (1935).
80. Rohmer, Bezssonoff, Stoerr en Périer. *Compt. rend. Soc. Biol.* **118**, 1090 (1935).
81. Schroeder. *Klin. Wschr.* (1935), 484.
82. Von Drigalski. *Klin. Wschr.* (1935), 338, 542.
83. Von Drigalski. *Z. Vitaminforsch.* **4**, 128 (1935).
84. Harde, Rothstein en Ratish. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* **32**, 1088 (1935).
85. Finkle. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* **32**, 1163 (1935).
86. Sullivan en Hess. *J. Biol. Chem.* **102**, 67 (1933).
87. Van Eekelen. *Acta Brev. Neerl.* **4**, 137 (1934); *Nature* **135**, 37 (1935).
88. Reichstein en Oppenauer. *Helv. Chim. Acta.* **16**, 988 (1933).
89. Hunter. *Biochem. J.* **22**, 4 (1928).
90. Williamson en Meldrum. *Biochem. J.* **26**, 815 (1932).
91. Salkowsky. *Gecit. naar Hammarsten. Lehrb. Physiol. Chem.* (1922), 598.
92. Van Eekelen, Emmerie en Wolff. *Acta Brev. Neerl.* **3**, 104 (1933); *Ned. T. v. Geneesk.* (1933), 3735.
93. Gabbe. *Klin. Wschr.* (1934), 1389.
94. Farmer en Abt. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.* **32**, 1625 (1935).

95. Mirsky, Swadesh en Soskin. Proc. Soc. exp. Biol. and Med. 32, 1130 (1935).
96. Dann en Gowgill. J. Nutr. 9, 507 (1935).
97. Van Eekelen en Kooy. Acta Brev. Neerl. 3, 169 (1933); Ned. T. v. Geneesk. (1934), 738.
98. Plaut en Bülow. Klin. Wschr. (1935), 1318.
99. Harris en Ray. Lancet (1935), 71.
100. Abbasy, Harris, Ray en Marrack. Lancet (1935), 1399.
101. Ippen. Schweiz. med. Wschr. (1935), 431.
102. Pinotti. Klin. Wschr. (1935), 1289.
103. Neuweiler. Klin. Wschr. (1935), 1793.
104. Plaut en Bülow. Klin. Wschr. (1935), 276.
105. Plaut en Bülow. Z. Neur. 152, 324 (1935).
106. Plaut en Bülow. Naturwissch. (1935), 771.
107. Plaut en Bülow. Z. physiol. Chem. 236, 241 (1935).
108. Rumpel. Münch. med. Wschr. (1909), 1404.
109. Leede. Münch. med. Wschr. (1911), 293.
110. Hess en Fish. Amer. J. Dis. Child. 8, 385 (1914).
111. Öhnell. Acta med. Scand. 68, 176 (1928).
112. Göthlin. Skand. Arch. Physiol. 61, 225 (1931).
113. Göthlin. Klin. Wschr. (1932), 1469.
114. Falk, Gedda en Göthlin. Skand. Arch. Physiol. 65, 24 (1933).
115. Dalldorf. Amer. J. Dis. Child. 46, 794 (1933).
116. Dalldorf en Russell. J. Amer. Med. Assoc. 104, 1701 (1935).
117. Gedda. Skand. Arch. Physiol. 63, 306 (1932).
118. Stocking. Arch. of Pediat. 50, 823 (1933).
119. Greene. J. Amer. med. Assoc. 103, 4 (1934).
120. Nordemark. Skand. Arch. Physiol. 70, 186 (1934).
121. Schultzer. Acta med. Scand. 81, 113 (1934).
122. Billing. Upsala Läk. för. Förh. 40, 389 (1935).
123. Geschwind en Rundquist. Upsala Läk. för. Förh. 40, 403 (1935).
124. Perry. Lancet (1935), 426.
125. Hess. J. Amer. med. Assoc. 98, 1429 (1932).
126. Göthlin. Skand. Arch. Physiol. 61, 252 (1931).
127. Göthlin. Nature (1934) 569.
128. Menon. Ind. J. Med. Res. 23, 447 (1935).
129. Van Beverwijck. Van de Blauwschuyt. Dordrecht (1642).
130. Wannée. Kookboek van de Amsterdamsche huishoudschool, Amsterdam, 6e dr. z. j.

INHOUD

	Blz.
Inleiding	1
Hoofdstuk I. Over het voorkomen van scheurbuik in Nederland	3
Hoofdstuk II. De ontdekking van het vitamine C en zijn chemische bepaling	10
Hoofdstuk III. Vitamine C in voedingsmiddelen. Hoeveel vitamine C wordt dagelijks door de mens gegeten?	19
Hoofdstuk IV. De bepaling van Vitamine C in bloed en urine	35
Hoofdstuk V. De dagelijks nodige hoeveelheid vitamine C. Het aantonen van vitamine C-gebrek	45
Samenvatting	67
Summary	69
Literatuur	71

STELLINGEN

I.

De minimum hoeveelheid eiwit, die de volwassen mens per dag nodig heeft, kan men niet bepalen door alleen de stikstofbalans te bestuderen.

II.

Er bestaan geen obligaate anoxybiontische dierlijke parasieten.

III.

Von Euler c.s. hebben niet overtuigend bewezen, dat er een antipneumonisch vitamine (vitamine J) bestaat.

(Z. Hyg. 116, 672 (1935))

IV.

Kunstmatige hoogtezonnen behoren een spectrum te hebben, waarin licht van een lagere golflengte dan 270 m μ niet voorkomt.

V.

De mening van Leigh-Sharpe, dat er een verband bestaat tussen de mate van degeneratie bij parasitische Copepoden en de phylogenetische ouderdom der gastheren, is niet juist.

(Parasitology, 20, 421 (1928))

VI.

De anthropogenese kan niet worden verklaard met de retardatie-theorie van Bolck.

VII.

De identificatie van de kleurstoffen van Neurospora (Monilia) sitophila Shear et Dodge door Van Deventer is niet juist.

VIII.

De soort is een taxonomisch begrip. Een soort is gebaseerd op het type; de begrenzing ervan moet aan de taxonoom worden overgelaten.

