



Hochschule Neubrandenburg
University of Applied Sciences

Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften

Studiengang Lebensmitteltechnologie

WS 2017/18

Kann eine ausreichende Versorgung mit Vitamin-B₁₂ durch eine vegane Ernährung sichergestellt werden?

Bachelorarbeit

Verfasser: Annika Böse

Betreuer: Prof. Dr. Peter Meurer
Prof. Dr. Marco Ebert

Neubrandenburg, 29.03.2018

urn:nbn:de:gbv:519-thesis 2007-0707-0

Abstract

The aim of this thesis is to examine if herbal products can be a relevant source of vitamin B₁₂. This is especially important for groups of people who only feed on non-animal foods. 10% of all people in Germany are vegans, almost as many men and about one third of all women consume too little B₁₂. A B₁₂ deficiency can lead to paralysis and nerve pain. For this, statements from leading scientists are reviewed and compared. In certain species of fungi, algae and sea-buckthorn, relevant B₁₂ levels can be detected. However, the variety of products is too small for a well-balanced nutritional plan.

Inhaltsverzeichnis

Symbolverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	II
1 Einleitung	1
2 Vitamin B ₁₂	3
2.1 Historie	3
2.2 Aufbau und Bedeutung	3
2.3 Vitamin-B ₁₂ -Synthese	5
2.4 Vitamin B ₁₂ -Quellen	5
3 Ernährungssituation	7
3.1 Vitamin B ₁₂ -Versorgung in Deutschland	7
3.2 Veganismus	8
3.3 Tagesempfehlung	9
3.4 Nahrungsergänzungsmittel	12
3.5 Vitamin-B ₁₂ im menschlichen Körper	14
3.5.1 Vitamin-B ₁₂ -abhängige Reaktionen	14
3.5.2 Absorption	15
3.5.3 Vitamin-B ₁₂ -Mangel	16
4 Analyseverfahren	19
4.1 Mikrobiologisch	19
4.2 Radioisotopenverdünnung (RID)	20
4.3 Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung	21
4.4 Einfluss- und Störfaktoren	21
5 Vitamin B ₁₂ in Pflanzen	24
5.1 Vorkommen	24
5.1.1 Symbiose	24
5.1.2 Fermentation	25

5.1.3	Vitamin-B ₁₂ -Anreicherung in Pflanzen.....	25
5.2	B ₁₂ -Untersuchungen in nicht-tierischen Lebensmitteln	27
5.2.1	Höhere Pflanzen	28
5.2.2	Fermentierte Lebensmittel.....	30
5.2.3	Algen und Cyanobakterien.....	32
5.2.4	Pilze.....	36
6	Diskussion.....	39
6.1	Interessenvertreter	39
6.1.1	Höhere Pflanzen	39
6.1.2	Algen und Cyanobakterien.....	39
6.1.3	Fermentierte Lebensmittel.....	41
6.1.4	Pilze.....	41
6.2	Weiterführende Forschung	42
6.2.1	Symbiose	42
6.2.2	Fermentation.....	44
6.2.3	Vitamin-B ₁₂ -Anreicherung in Pflanzen.....	45
7	Zusammenfassung.....	46
8	Literaturverzeichnis	48
	Abbildungsverzeichnis	III
	Tabellenverzeichnis.....	IV

Symbolverzeichnis

Symbol	Bezeichnung	Einheit
J	Joule	[kJ]
l	Länge	[m]
m	Masse	[kg]; [μg]
<i>n</i>	Stoffmenge	[mol]
t	Zeit	[s]
T	Temperatur	[°C]
V	Volumen	[l]

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Erläuterung
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
ATP	Adenosintriphosphat
BBM	Brush Border Membran
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
Cbl	Cobalamin
CN-Cbl	Cyanocobalamin
CoA	Coenzym A
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DMB	5,6-Dimethylbenzimidazol
DTC	Deutsche Tiernahrung Cremer
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
GRAS	Generally Recognized As Safe
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IAC	Immunoaffinitätssäulen
IF	Intrinsischer Faktor
ifp	Institut für Produktqualität
KCN	Kaliumcyanid
LC/ESI-MS/MS	Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung und Elektrospray-Ionisation
LCI	Lebensmittelchemisches Institut
MBA	Microbiological assay (Mikrobiologischer Nachweis)
Me-Cbl	Methylcobalamin
metE	Methionin-Synthase-Gen

III

MCM	Methylmalonyl-CoA-Mutase
NVS	Nationale Verzehrsstudie
ÖGE	Österreichische Gesellschaft für Ernährung
RDA	Recommended Daily Allowances (empfohlene Tagesdosis)
RID	Radioisotopenverdünnung
RP-HPLC	Reversed Phase-Chromatographie
RSD	relative standard deviations
SAM	S-Adenosyl-Methionin
SPE	solid phase extraction (Festphasenextraktion)
TC1	Transcoblamin I
TC2	Transcoblamin II
THF	Tetrahydrofolat
UL	Tolerable Upper Intake Level
UV	ultraviolett
VEBU	Vegetarierbund
VIS	visible (sichtbar)
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

„Eine ausreichende Vitamin-B₁₂-Versorgung ist nach derzeitigem Kenntnisstand bei veganer Ernährung nur durch die Einnahme von Nährstoffpräparaten möglich“ (DGE, 2016). Diese Aussage soll in der vorliegenden Arbeit überprüft werden. Vitamin B₁₂, auch Cobalamin genannt, wird ausschließlich von Bakterien und *Archaea* neusynthetisiert (Burgess et al., 2009). Sowohl Menschen als auch Tiere benötigen zwar Cobalamin, aber synthetisieren es anscheinend nicht selbst. Pflanzen und Pilze hingegen benötigen kein Vitamin B₁₂ und synthetisieren es auch nicht (Martens et al, 2002). Wiederkäuer beziehen ihr Vitamin B₁₂ durch die symbiotische Beziehung von Bakterien in ihren Mägen (Watanabe et al., 2013). Daher sind tierische Produkte wie Käse, Milch, Fleisch und Fleischerzeugnisse Hauptlieferant für Vitamin B₁₂. Im tierischen Körper wird das Vitamin in Leber- und Muskelzellen gespeichert. Diese sind besonders reichhaltig an B₁₂ (NVS II, 2008). Vitamin B₁₂ wirkt im menschlichen Körper als Coenzym und trägt unter anderem zur Zellteilung und Blutbildung sowie zur Erhaltung des zentralen Nervensystems bei. Laut der D-A-CH-Referenzwerte benötigt ein gesunder Erwachsener 3,0 µg pro Tag. Schwangere, Stillende und Senioren haben einen erhöhten Bedarf. Aus der Nationalen Verzehrstudie Teil II (2008) geht hervor, dass 26 % der Frauen und 8 % der Männer in Deutschland die empfohlene Zufuhr nicht erreichen. Auch in der menschlichen Leber wird Vitamin B₁₂ über einen sehr langen Zeitraum gespeichert, daher können Jahre vergehen bis erste Mangelercheinungen auftreten. Eine langfristige Unterversorgung von Cobalamin kann zu depressiven Symptomen, Infektionsanfälligkeit bis hin zu irreversiblen neurologischen Schädigungen führen (Nakos et al., 2017). Veganer sind durch ihren Verzicht auf tierische Produkte besonders gefährdet (DGE, 2016). Nach einer aktuellen Umfrage leben 0,84 Millionen Menschen in Deutschland nach diesem Ernährungsstil (Statista, 2017). Es gilt zu prüfen, ob auch Pflanzen als mögliche Vitamin-B₁₂-Quellen infrage kommen. Durch Symbiose mit einigen Mikroorganismen, Fermentation und (Boden-)Kontamination kann Cobalamin in Pflanzen dennoch nachgewiesen werden (Watanabe et al., 2014). Auch eine Cobalamin-Anreicherung des Bodensubstrats führt bei einigen Pflanzen zur Vitaminaufnahme (Mozafar, 1994). Es ist zu klären, ob es sich in diesen Fällen um vitaminwirksames B₁₂ handelt und auch ob eine relevante Menge für den menschlichen Organismus zur Verfügung steht. Zum Nachweis von Cobalamin werden verschiedene Analyseverfahren betrachtet. Um sich einen allgemeinen Überblick über den B₁₂-Gehalt von einem Produkt zu machen, eignet sich eine mikrobiologischer Nachweismethode. Ein sehr genaues Verfahren, welches auch die exakte Bestimmung der Mengen verschiedener Cobalamin-Gruppen ermöglicht, ist die LC/ESI-MS/MS. Auch die Probenvorbereitung spielt eine wichtige Rolle, da sie mögliche

Störfaktoren minimieren kann. Abschließend sollen Möglichkeiten aufgezeigt werden, wie der Cobalamingehalt in Pflanzen industriell erhöht werden könnte.

2 Vitamin B₁₂

2.1 Historie

Durch die Erforschung einer speziellen Art der Blutarmut, der perniziösen Anämie, wurde Vitamin B₁₂ indirekt entdeckt. Dabei ist die Blutbildung aufgrund eines Vitamin-B₁₂-Mangels gestört. Erstmals wurde die Krankheit 1822 von Cobe erwähnt und 1849 von Addison beschrieben. In den frühen 1920er Jahren konnten zwei amerikanische Ärzte, Minot und Murphy, eine Therapie gegen diese spezielle Form der Anämie entwickeln. Sie verordneten eine Diät mit ganzer Leber und entdeckten später den „Extrinsic factor“, ein Glykoprotein welches zur B₁₂-Aufnahme beiträgt. 1934 erhielten Whipple, Minot und Murphy den Nobelpreis für die Therapie mit der Leber. Es gelang zwei wissenschaftlichen Forschungsgruppen zeitgleich die Isolierung einer roten, kristallinen Verbindung aus einer Leber, welche als B₁₂ bezeichnet wurde. Kurz danach wurde B₁₂ auch in Milchpulver, Rindfleischextrakten und Kulturbrühen verschiedener Bakterienengattungen gefunden. Durch den zusätzlichen Einsatz von Röntgentechnik konnte Hodgkin (1955) die vollständige Struktur veröffentlichen.

Cobalamin ist ein Corrinderivat, bestehend aus vier Pyrrolringen, die um ein zentrales Cobaltion gelagert sind. Am Cobaltatom können unterschiedliche Reste gebunden sein, diese bestimmen die biochemischen Eigenschaften. Definitionsgemäß wird Vitamin B₁₂ auch als Cyanocobalamin (CNCbl) bezeichnet (Martens et al., 2002). Vitamin B₁₂ ist das einzige wasserlösliche Vitamin, welches über einen sehr langen Zeitraum von der Leber gespeichert werden kann (Nakos et al., 2017). Es fungiert im Körper als Coenzym und trägt zur Blutbildung und Zellteilung bei (Martens et al., 2002). Eine Unterversorgung kann zu depressiven Symptomen, Infektionsanfälligkeit bis hin zu irreversiblen neurologischen Schädigungen führen (Nakos et al., 2017). Der häufigste Grund für einen B₁₂-Mangel ist eine unzureichende Absorption mit zunehmendem Alter. Aber auch eine B₁₂-arme Ernährungsweise kann langfristig zu einer Unterversorgung führen (Baltes; Matissek, 2007).

2.2 Aufbau und Bedeutung

Cobalamin lässt sich im Wesentlichen in drei Teile gliedern: den planaren Corrin-Ring, bestehend aus vier Pyrroleinheiten, einen niedrigen α -Liganden und einem oberen β -Liganden (Martens et al., 2002). Wenn der α -Ligand fehlt oder durch einen anderen Liganden als 5,6-Dimethylbenzimidazol (DMB) ersetzt wird (z.B. Adenin), handelt es sich um Pseudovitamin B₁₂ oder um Vitamin B₁₂-Analoga (Kysil, 2014). Diese werden von einigen Bakterien produziert (Martens et al., 2002). Der β -Ligand ist der entscheidende Faktor zur Bestimmung der Vitamin-

B₁₂-Gruppe. Grundsätzlich kann zwischen Adenosylcobalamin, Methylcobalamin, Hydroxocobalamin und Cyanocobalamin unterschieden werden (siehe Abb. 1)

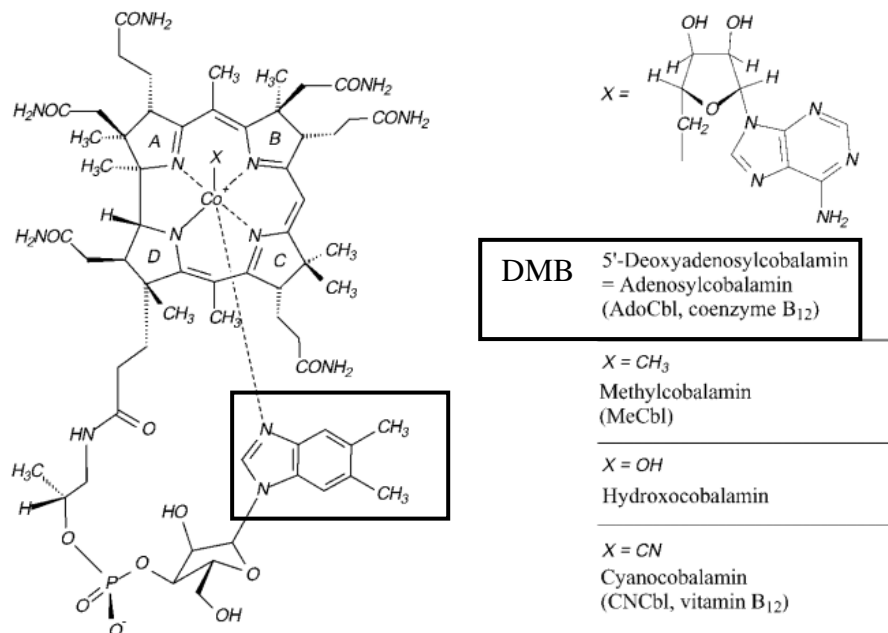


Abb. 1: Chemische Struktur von Vitamin B₁₂ (Martens et al., 2002)

Cyanocobalamin (CNCbl) ist die stabilste Form und wird zu medizinischen und kommerziellen Zwecken isoliert (Blache et al., 1995). Die Struktur entsteht durch die Zugabe von Cyanid zur Stabilisierung bei der Herstellung. Da Cyanocobalamin eine künstliche Form des Vitamin-B₁₂ ist, kommt es hauptsächlich in Nährstoffpräparaten vor und ist geeignet um eine Vielzahl an Vitamin-B₁₂-Mängeln zu bekämpfen. Es ist nicht direkt vitaminwirksam für den menschlichen Körper. Eine seltene Erkrankung bei Neugeborenen verhindert den enzymatischen Abbau von Cyanid, daher können sie Cyanocobalamin nicht als B₁₂-Quelle nutzen. Bei einem derartigen Defekt wird es vom Körper als Antimetabolit behandelt und kann den Mangel noch verstärken (Herbert, 1988). Es kommt also auf natürliche Weise weder im menschlichen Körper, noch in Nahrungsmitteln in nennenswerten Mengen vor. Im gesunden Körper kann Cyanocobalamin zu vitaminwirksamen Formen umgewandelt werden (Nakos et al., 2017; Martens et al., 2002). Die Bioverfügbarkeit von Cyanocobalamin ist im Vergleich zu den anderen drei Formen geringer, da ein Teil direkt ausgeschieden wird. Die Umwandlung von Cyanocobalamin zu Hydroxocobalamin bedarf einiger Stoffwechselprozesse. Hydroxocobalamin ist die Vorform der Coenzyme Adenosylcobalamin und Methylcobalamin. Demnach ist auch dies nicht direkt bioverfügbar. Es ist aber die Form, die auf natürliche Weise von Mikroorganismen synthetisiert wird. Mit 50 %

macht es fast den größten Anteil an Vitamin-B₁₂ im menschlichen Organismus aus. Durch seine gute Bindung an verschiedenen Transportmolekülen bleibt es lange im Blut und sorgt somit für eine gleichmäßige Dosierung (Boody et al., 1968). Methyl-, und Adenosylcobalamin sind die beiden aktiven Formen, welche an Stoffwechselprozessen im menschlichen Organismus teilnehmen (Nakos et al., 2017). Diese Stoffwechselvorgänge werden in Kapitel 3.5.1 näher beschrieben.

2.3 Vitamin-B₁₂-Synthese

Vitamin B₁₂ wird von Prokaryoten synthetisiert (Fang et al., 2017). Es werden mehr als 30 Gene für die gesamte De-novo-Synthese von Cobalamin benötigt. Das entspricht etwa 1 % eines typischen Bakteriengenoms. Die Biosynthese von Vitamin B₁₂ bei Bakterien und Archaea ist in der Natur auf zwei Wegen möglich, aerob und anaerob. Beispielsweise ist die B₁₂-Produktion von *Paracoccus denitrificans* sauerstoffabhängig und die von *Bacillus megaterium*, *Propionibacterium freudenreichii* und *Salmonella typhimurium* sauerstoffunabhängig. Gene, die Enzyme der sauerstoffabhängigen Cobalaminbiosynthese kodieren, werden mit der Silbe cob gekennzeichnet, bei sauerstoffunabhängiger Synthese mit cbi (Martens et al., 2002). Einige Stämme können Cobalamin durch „Salvage-Pathway“ produzieren. Diesem Stoffwechselweg liegt die Synthese eines Biomoleküls aus Abbauprodukten zugrunde. In dem Fall der Cobalaminsynthese werden Corrinioide absorbiert (Fang et al., 2017). Auch die Mikroorganismen der Darmflora von Wiederkäuern sind in der Lage B₁₂ zu produzieren.

Speziesspezifisch übernimmt B₁₂ verschiedene Stoffwechselaufgaben. Allgemein trägt es zur Blutbildung und zum Wachstumsprozess bei. Bei Wiederkäuern ist es außerdem für die Lactosebildung bedeutsam. Bei einem Mangel können u. a. Wachstumsdefizite, schlechte Futterverwertung und Hautentzündungen auftreten. Beim Geflügel kann B₁₂-Mangel eine verminderte Brutfähigkeit zur Folge haben. Durch einen ausreichenden Gehalt an Kobalt im Futtermittel von Wiederkäuern kann der B₁₂-Bedarf alleine durch die Pansenmikroben gedeckt werden. Je nach Tierart werden Futtermittel bedarfsgerecht mit B₁₂ angereichert (DTC, 1999).

2.4 Vitamin B₁₂-Quellen

Hauptlieferanten sind Leber, Fleisch, Milch, Eier, Fisch, Austern und Muscheln (Nakos et al., 2017). Obst, Gemüse, Getreide und Pilze hingegen enthalten laut der GU Nährwerttabelle 2016/17 keine relevanten Mengen an B₁₂. In Tab. 1 sind verschiedene Lebensmittel mit ihrem B₁₂-Gehalt aufgelistet. Mit Abstand den höchsten B₁₂-Gehalt weist die Steckmuschel mit 153 µg

/ 100 g auf, gefolgt von der Rinderleber mit 65 µg / 100 g. Nakos et al., (2017) schreiben, dass besonders die Leber von Wiederkäuern reich an B₁₂ ist. Dies geht auch aus dem Auszug der GU Nährwerttabelle hervor. So hat Rinderleber einen ca. doppelt so hohen Wert, wie die Leber von Schweinen oder Hühnern. Wie auch beim Menschen, dient die Leber als Speicher von B₁₂. Das Fleisch von Hase und Fasan hat vergleichsweise niedrige Werte an B₁₂.

Tab. 1: Vitamin-B₁₂-Gehalt verschiedener Lebensmittel (GU Nährwerttabelle 2016/17)

Kategorie	Beispiel	µg / 100 g
Eier	Hühnerei (Gesamtinhalt)	1,9
Fleisch	Rinderleber	65
	Rinderniere	33
	Oberschale (Rind)	2
	Schweineleber	39
	Schweineniere	15
	Oberschale (Schwein)	1
	Hühnerleber	26
	Hühnerbrust	0,4
	Putenbrust	0,5
	Brathuhn	0,4
	Fasan	0,8
	Hase	1
Fische, Meerestiere	Hering (Atlantikhering)	8,5
	Seelachs (Köhler)	3,5
	Thunfisch	4,3
	Miesmuschel	8
	Steckmuschel	153
Käse	Emmentaler, 49 % Fett i. Tr.	3,1
	Camembert, 30 % Fett i. Tr.	3,1
	Tilsiter, 30 % Fett i. Tr.	2,5
Milch	Kuhmilch, 1,5 % Fett	0,4
Hülsenfrüchte, Getreide	Erbsen, Bohnen, Weizen, Dinkel	0
Pilze	Steinpilz, Pfefferling, Champignon	0
Gemüse, Obst	Gurke, Tomate, Apfel, Birne	0

3 Ernährungssituation

3.1 Vitamin B₁₂-Versorgung in Deutschland

Männer beziehen ca. 40 % ihres aufgenommenen Vitamin B₁₂ aus Fleisch und Fleischerzeugnissen. Bei Frauen sind die Hauptlieferanten mit ca. 31 % Milch und Käse. Dies entspricht auch den allgemeinen Ernährungsgewohnheiten der Deutschen. So konsumieren Frauen generell weniger Fleisch als Männer und Männer weniger Milch und Käse als Frauen. Beide Gruppen beziehen ca. 15 % aus Fisch und Fischerzeugnissen. Der Abb. 2 kann entnommen werden, dass andere Lebensmittelgruppen zur B₁₂-Versorgung nur eine untergeordnete Rolle spielen. Es kann aber keine Aussage über die Vitamindichte der Lebensmittelgruppen getroffen werden (NVS II, 2008).

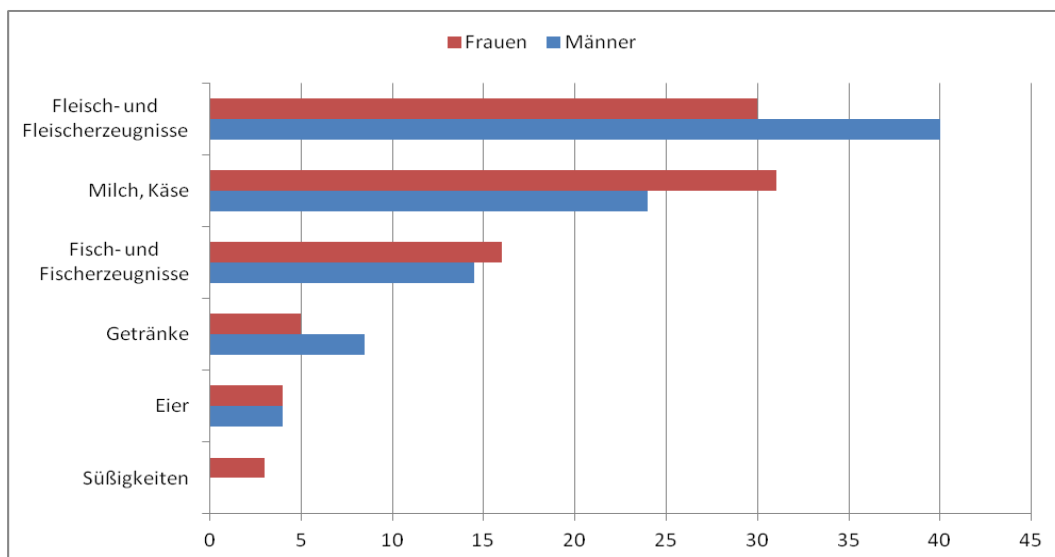


Abb. 2: Hauptquellen für Vitamin B₁₂ in Prozent (Eigene Darstellung in Anlehnung an NVS II, 2008)

Der Median der täglich aufgenommenen B₁₂-Menge liegt bei beiden Geschlechtern oberhalb der empfohlenen Zufuhr. Allerdings erreichen 26 % der Frauen und nur 8 % der Männer die empfohlene Tagesdosis nicht. Der Anteil der Männer, die die Zufuhrempfehlung nicht erreichen, ist in allen Altersstufen etwa gleich. Bei Frauen sind besonders die Jüngeren von einer Unterversorgung betroffen. So sind 33 % der 14- bis 24-Jährigen nicht ausreichend mit B₁₂ versorgt. Der Anteil sinkt bis zu der Altersgruppe von 51-64 Jahren auf 23 % ab und steigt dann wieder leicht an auf 26 % (NVS II, 2008).

3.2 Veganismus

Veganer werden oft auch als strenge Vegetarier bezeichnet. Sie verzichten nicht nur auf Fleisch und Fisch, sondern auch auf tierische Produkte wie Eier, Milch, Honig und Leder. Auch kosmetische Produkte, die an Tieren getestet wurden, werden gemieden. In Indien leben mit 38 % die meisten Vegetarier weltweit. Der Verzicht auf Fleisch in Entwicklungsländern erfolgt jedoch nicht freiwillig. Deutschland belegt bei den Ländern mit dem höchsten Anteil von Vegetariern Platz 6 und kann, wie Österreich und das Vereinigte Königreich, 9 % Vegetarier verzeichnen (<https://vebu.de> 10.12.2017). Die Motivation, sich für diese Ernährungsweise zu entscheiden, kann vielfältig sein. Sie kann ethischer, moralischer oder religiöser Natur sein oder aus gesundheitlichen, ökologischen oder ökonomischen Gründen getroffen worden sein. Das Marktforschungsinstitut SKOPOS hat 2016 im Auftrag der Veganen Gesellschaft Deutschland e.V. eine repräsentative Befragung zum Thema Veganismus durchgeführt. Demnach entscheiden sich 60 % der Befragten in Deutschland aufgrund des Tierschutzes für eine vegane Diät. 75 % der Veganer waren vorher Vegetarier. 70 % der Veganer besitzen einen hohen Bildungsabschluss sind weiblich und zwischen 20 und 39 Jahre alt. Jährlich kommen seit 2010 15 % „Neueveganer“ dazu. Auch das Marktforschungsinstitut „YouGov“ kommt zu dem Entschluss, dass die Zahl der Veganer stetig ansteigt. Dies zeigt sich z. B. an der Anzahl der Neuveröffentlichungen von Büchern zu diesem Thema. So gab es 2011 zwölf Bücher zum Thema vegane Kochrezepte, 2013 waren es ca. 50 und 2014 bereits 77. Ein weiteres Indiz für die Ausbreitung der veganen Ernährung ist die Eröffnung veganer Supermärkte (Kerschke-Risch, 2015). 2011 wurde die erste vegane Supermarktkette „Veganz“ eröffnet. Diese ist laut eigener Aussage „europaweiter Marktführer in diesem Segment“ (www.veganz.de 12.12.2017). Aus einem Onlineartikel der VEBU 2016 geht hervor, dass sich 2008 erst 80 Tausend Personen in Deutschland vegan ernährten, 2013 waren es bereits 900 Tausend und 2016 schon 1,3 Mio. In einer Umfrage fand Kerschke-Risch 2015 heraus, dass fast 90 % der Befragten der Meinung sind, eine vegane Ernährung wäre heutzutage leichter, als noch vor einigen Jahren. Ob es sich beim Veganismus um einen Trend oder um eine langanhaltende Lebensart handelt, können nur Langzeitstudien zeigen. Vom „Langzeitvegetarier“ wird ab einem Verzicht von mindestens fünf Jahren gesprochen. Wird dies analog auf Veganer angewendet, so befolgen ein Drittel der Befragten von Frau Kerschke-Rischs Umfrage keinen Trend, sondern eine Lebenseinstellung.

Eine Ernährungsweise mit Schwerpunkt auf pflanzliche Lebensmittel kann einen positiven gesundheitlichen Effekt haben. Dies versuchten T. Colin Campbell und sein Sohn Thomas M. Campbell (2011) in ihrem Sachbuch „China Study – Die wissenschaftliche Begründung für eine

vegane Ernährungsweise“ zu belegen. Ihre Ergebnisse beruhen auf einer epidemiologischen Studie, die im ländlichen China in den 1970er und 1980er Jahren durchgeführt wurde. Es wurden auch weitere unabhängige Studien zum Verzehr von Fleisch und dessen Auswirkung auf die Gesundheit durchgeführt. Auch wenn das Werk stark umstritten ist, wird es umgangssprachlich als „Die Bibel des Veganismus“ bezeichnet. Die Kernaussage des Buches ist, dass je geringer der Anteil an tierischen Produkten in der Ernährung ist, desto größer sind die gesundheitlichen Vorteile. Tierische Nahrungsproteine werden als hauptverantwortliche Ursache für das Auftreten von chronischen Erkrankungen in westlichen Ländern angesehen. Die Campbell's sind zu dem Entschluss gekommen, dass es keine Nährstoffe gibt, die nicht von Pflanzen geliefert werden können.

Allerdings können durch eine einseitige Ernährungsweise auch verstärkt Mangelerscheinungen auftreten. Dies trifft nicht nur auf die sogenannten „Pudding-Vegetarier“ bzw. „Pudding-Veganer“ zu, welche sich hauptsächlich von Süßspeisen ernähren. Die DGE schrieb 2016 eine Position zur veganen Ernährung. Demnach sei eine ausreichende Versorgung mit essentiellen Nährstoffen nur schwer möglich. Vitamin B₁₂ wird als der kritischste Nährstoff genannt. Außerdem haben Veganer ein höheres Risiko zur Unterversorgung von: Proteinen bzw. essentiellen Aminosäuren, langkettigen Fettsäuren, Vitamin B₂ und D, sowie einige Mineralstoffe wie Calcium, Jod, Zink, Eisen, Selen. Babys, Kindern, Schwangeren und Stillenden wird eine vegane Ernährung nicht empfohlen. Wer sich dennoch vegan ernähren möchte, sollte sich an einen Ernährungsberater wenden. Die Aufnahme von Nährstoffpräparaten wird empfohlen. Weiterhin wird empfohlen, die kritischen Nährstoffe regelmäßig von einem Arzt überprüfen zu lassen (www.dge.de 15.12.2017).

3.3 Tagesempfehlung

Die DGE-Empfehlung für einen gesunden Erwachsenen beträgt 3 µg B₁₂ / pro Tag. In Tab. 2 wird die Tagesdosis an B₁₂ für verschiedene Altersgruppen dargestellt. Mit zunehmendem Alter steigt auch der Vitamin-B₁₂-Bedarf. Ab 14 Jahren bleibt die Zufuhrempfehlung konstant. Schwangere und Stillende sollten 0,5 bis 1,0 µg pro Tag mehr aufnehmen. Die DGE-Empfehlung entspricht dem Tagesbedarf von 97,5 % aller gesunden Menschen. Neben der Referenzwerte der DGE hat auch die EU eine Empfehlung in Form des RDA veröffentlicht. Die EU empfiehlt eine tägliche Dosis von 2,5 µg ab dem 14. Lebensjahr (www.vitaminb12.de/ 20.02.2018).

Tab. 2: Vitamin-B₁₂-Zufuhrempfehlung (ÖGE, 2016)

Bevölkerungsgruppe	µg / Tag
Kinder 1-4	1,0
Kind 4-7	1,5
Kinder 7-10	1,8
Kinder 10-13	2,0
Jugendliche und Erwachsene ab 14	3,0
Schwangere	3,5
Stillende	4,0

Die Zufuhrempfehlung setzt sich aus Ausscheidung, Verbrauch und Speicherung von B₁₂ zusammen. Die Grundlagen dafür bilden Ernährungsstudien, bei denen u. a. Anämiepatienten, Vegetarier und Veganer miteinbezogen wurden.

Pro Tag werden ca. 0,5 bis 1,0 µg Vitamin B₁₂ im menschlichen Körper benötigt, die genauen Funktionen werden in Kapitel 3.5 erläutert. Dieser Wert wurde aus einer Studie mit B₁₂-Injektionen abgeleitet, es wird also ein gesunder Magen-Darmtrakt vorausgesetzt. Um den körpereigenen B₁₂-Speicher langfristig zu füllen, muss über die benötigte Vitaminmenge hinaus, B₁₂ zu sich genommen werden. Insgesamt können etwa 2500 µg gespeichert werden. Dieser Vorrat ist besonders wichtig für ältere Menschen und Personengruppen mit erhöhtem B₁₂-Bedarf. Von diesem Speicher können sie bis zu fünf Jahre zehren, ohne dass Mangelercheinungen auftreten. Des Weiteren werden 1 bis 2 µg B₁₂ täglich ausgeschieden, da die Hauptaufnahme an den „Intrinsischen Faktor“ gebunden ist und dieser nur begrenzt zur Verfügung steht, siehe Kapitel 3.5.2 (www.vitaminb12.de 01.11.2017). Manche Analoga können aktives B₁₂ im Säugetiermetabolismus zudem noch blocken (Nakos et al., 2017).

Eine Auflistung von Lebensmitteln mit einem hohen B₁₂-Gehalt ist der Tab. 1 zu entnehmen. Laut den DACH-Referenzwerten benötigt ein gesunder Erwachsener 3 µg Vitamin B₁₂ pro Tag. Dies entspricht einem wöchentlichen Bedarf von 21 µg.

Auf Grundlage des DGE-Ernährungskreises hat die Deutsche Gesellschaft der Ernährung eine beispielhafte Lebensmittelauswahl formuliert. Die Lebensmittel wurden, wie im Ernährungskreis, in sieben Gruppen eingeteilt.

Da zur B₁₂-Versorgung hauptsächlich tierische Produkte relevant sind, wird der Schwerpunkt im Folgenden auf Gruppe 4 „Milch und Milchprodukte“ und Gruppe 5 „Fleisch, Wurst, Fisch und Eier“ gelegt. Aufgrund des geringen Gesamtanteils bei der Ernährungsempfehlung entfallen „Öle und Fette“, obwohl diese auch auf tierischer Basis hergestellt werden können. Es soll geprüft werden, ob durch eine gesunde, vollwertige Ernährung nach den Empfehlungen der DGE eine ausreichende Versorgung mit B₁₂ erreicht werden kann. Die nachstehende Tab. 3 enthält konkrete Lebensmittelbeispiele mit ihrem jeweiligen B₁₂-Gehalt, bezogen auf die konsumierte Menge pro Woche.

Tab. 3: Konkretisierte Lebensmittelauswahl aus Gruppe 4 und 5 des Ernährungskreises der DGE, bezogen auf eine wöchentliche Aufnahmeempfehlung (GU Nährwerttabelle 2016/17)

	Menge	Gruppe	Beispiel	Vitamin B ₁₂
Gruppe 4	1400 – 1750 g	fettarme Milch/-produkte	Kuhmilch, 1,5 % Fett	5,6 – 7,0 µg
	350 – 420 g	fettarmer Käse	Camembert, 30 % Fett i. Tr.	10,9 – 13,0 µg
Gruppe 5	300 – 600 g	fettarmes Fleisch/-erzeugnis	Putenbrust	1,5 – 3,0 µg
	80 – 150g	fettarmer Seefisch/-erzeugnis	Seelachs	2,8 – 5,3 µg
	70 g	fettreicher Seefisch/-erzeugnis	Hering	6,0 µg
	3 Stück	Eier	Hühnerei	5,7 µg
	Summe			32,5 – 40,0 µg

Die ausgewählten Lebensmittel in Tab. 3 decken den wöchentlichen Bedarf an Vitamin B₁₂ um mehr als 150 %. Dies zeigt, dass bei einer Vollwerternährung eine ausreichende Versorgung möglich ist. Veganer verzehren keine Produkte aus Gruppe 4 und 5. Sie haben die Möglichkeit B₁₂-supplimentierte Lebensmittel zu konsumieren.

Besonders häufig werden Säfte, Cerealien und „Milch“ auf Pflanzenbasis mit Vitaminen angereichert. Allerdings enthalten die meisten Produkte zu wenig B₁₂, um den Tagesbedarf zu decken. Sie können lediglich zur Unterstützung beitragen. Des Weiteren ist zu beachten, dass ökologischen Erzeugnissen keine Vitamine zugesetzt werden dürfen (<https://vebu.de/> 20.03.2018). Eine Auswahl an veganen „Ersatzprodukten“ ist der Tab. 4 zu entnehmen. Sie enthält lediglich eine kleine Übersicht und kann nicht auf alle veganen Ersatzprodukte bezogen werden. Die pflanzliche „Milch“ von Alpro enthält fast den gleichen Gehalt an Vitamin B₁₂ wie eine fettarme Kuhmilch. Der „Scheibenkäse“ von bedda kommt lediglich auf die Hälfte des Gehalts von Em-

mentaler, 49 % Fett i. Tr., Fleisch-, Fisch- und Ei-Imitat wurden in diesem Beispiel kein B₁₂ zugesetzt. Bei einem Konsum von einem Liter Hafer-Mandel-Drink könnte der Tagesbedarf fast gedeckt werden. Jedoch ist dies für den täglichen Verzehr eher ungeeignet. Dennoch können sie einen relevanten Beitrag zur B₁₂-Versorgung leisten.

Tab. 4: Vitamin-B₁₂-angereicherte Lebensmittel

Produktgruppe	Produkt	B ₁₂ / 100 g	Quelle
„Milch und Milchprodukte“ auf Pflanzenbasis	Alpro Haferdrink Original	0,38 µg	www.alpro.com 07.03.2018
	bedda Scheiben classic	1,5 µg	www.bedda-world.com 07.03.2018
„Fleisch, Wurst, Fisch und Eier“ auf Pflanzenbasis	MyEy VollEy	0 µg*	www.boutique-vegan.com 07.03.2018
	VBites MAKING WAVES Fish-Style Fingers	0 µg*	www.alles-vegetarisch.de 07.03.2018
	Defti pikant - vegane Wurst	0 µg*	www.lebegesund.de 07.03.2018

* keine B₁₂-Zugabe laut Rezeptur

3.4 Nahrungsergänzungsmittel

In Rahmen der NVS II von 2008 wurde eine Befragung zum Thema B₁₂-Supplementierung durchgeführt. An ihr haben 677 Männern und 822 Frauen teilgenommen. Im Alter zwischen 14 und 80 Jahren supplementierten im Durchschnitt Männer 3,9 µg und Frauen 5,8 µg Vitamin B₁₂ pro Tag. Auffällig sind die starken Schwankungen verschiedener Altersgruppen. Die supplementierte B₁₂-Menge unterscheidet sich jedoch kaum zwischen den Geschlechtern. In den beiden Altersgruppen 25 bis 34 Jahre und 65 bis 80 Jahre ist der Wert am höchsten. Auch hier sind die Geschlechterunterschiede vernachlässigbar gering. Die beiden Gruppen supplementierten ca. 7 µg Vitamin B₁₂ pro Tag. Laut des statistischen Bundesamtes liegt 2015 das durchschnittliche Alter von Frauen bei der Geburt ihres Kindes bei 31 Jahren (www.destatis.de 20.03.2018). In der Schwangerschaft und Stillzeit empfiehlt die DGE eine höhere Zufuhr von Vitamin B₁₂. Diesem Umstand könnte es geschuldet sein, warum gerade Frauen im Alter von 25 bis 34 verstärkt B₁₂ supplementieren. Allerdings erklärt dies nicht den Anstieg bei Männern. Weiterhin empfiehlt die DGE auch eine erhöhte B₁₂-Dosis für Senioren.

Die Basis zur Herstellung von B₁₂-Nährstoffpräparaten bildeten Woodward und Eschenmoser. Ihnen gelang erstmals 1973 die vollständige chemische Synthese von Vitamin-B₁₂ (Martens et al., 2002). Der Prozess ist sehr komplex und umfasst ca. 70 Syntheseschritte, dies entspricht ca. 1 % eines typischen Bakteriengenoms. Da das Verfahren sehr kostenintensiv ist, findet die industrielle Produktion von Cobalamin fast ausschließlich durch Fermentation statt (Burgess et al., 2009). Jährlich werden kommerziell etwa 10 Tonnen B₁₂ produziert (Martens et al., 2002). Hauptsächlich kommen dafür Propionibakterien, *Pseudomonas* und *Nocardia* zum Einsatz. Es wird versucht, die Ausbeute durch Gentechnik und Zufallsmutation zu erhöhen (Burgess et al., 2009). Vorab werden dafür die Kulturen nach hoher Produktivität und einfacher Handhabung ausgewählt. Die Erzeugung von Zufallsmutationen spielt in der kommerziellen Produktion eine übergeordnete Rolle. Hierzu werden die Mikroorganismen beispielsweise mit UV-Licht, Nitrosomethyluretan oder Ethylenimin behandelt. Obwohl Propionibakterien allgemein als sicher anerkannt sind (GRAS-Status), verwendet beispielsweise Aventis, einer der bedeutendsten B₁₂-Produzenten, hauptsächlich *Pseudomonas denitrificans* (Martens et al., 2002). *Propionibacterium*-Stämme, die zur B₁₂-Produktion eingesetzt werden, sind mikroaerophil. Das bedeutet, dass sie zum Wachstum eine niedrige Sauerstoffkonzentration benötigen. Jedoch ist die Biosynthese eines wichtigen Teilschrittes (DMB) an das Vorhandensein von Sauerstoff gebunden. Daher findet die Fermentation bei diesen Bakterien in zwei Schritten statt. Unter anaeroben Bedingungen wird zunächst die Bildung von Cobamid gefördert. Cobamid ist ein Zwischenprodukt der B₁₂-Synthese. Anschließend erfolgt für ein bis drei Tage eine Belüftung. Dadurch findet die sauerstoffabhängige Synthese des DMB statt, welches sich anschließend mit Cobamid verbindet. Weiterhin ist es wichtig, die gebildete Propionsäure, welche etwa 10 % des Fermentationsvolumens entspricht, zu neutralisieren, um einen pH-Wert von 7 zu halten. Unabhängig von den Produktionsstämmen und Kulturbedingungen sollten einige Verbindungen zum Medium für die B₁₂-Produktion hinzugefügt werden. Häufig wird die Zugabe von Kobaltionen und DMB beschrieben. Die Zugabe von Glycin, Threonin, δ -Aminolävulinsäure oder kompatible Solute wie Betain könnte vorteilhaft sein (Martens et al., 2002). Nach Abschluss der B₁₂-Synthese werden die Kulturen geerntet. Das Vitamin B₁₂ wird durch Erhitzung bei 80 – 120 °C extrahiert und anschließend geklärt. Durch Gerbsäure oder Kresol fällt das Vitamin aus, wodurch ein Reinheitsgrad von 80 % erreicht wird. Für die Verwendung in der Lebensmittelindustrie oder Pharmazie sind weitere Aufreinigungsschritte nötig. Hierzu können beispielsweise organische Lösungsmittel wie Kresol, Tetrachlorkohlenstoff und Wasser/Butanol verwendet werden. Diese werden oft durch Adsorption an Ionenaustauscher oder Aktivkohle ergänzt. Zum Schluss erfolgt

eine Kristallisierung des Vitamins durch die Zugabe eines organischen Lösungsmittels (Martens et al., 2002). Vitamin B₁₂ als Nahrungsergänzungsmittel wird vorwiegend in Tablettenform vertrieben. Dabei handelt es sich meistens um Cyanocobalamin, die stabilste Form der Cobalamine. Diese wird im Körper zu Methylcobalamin metabolisiert. Voraussetzung für diesen Vorgang ist eine intakte Produktion des Intrinsischen Faktors (Nakos et al., 2017). Auch die Einnahme von Tropfen und Lutschpastillen ist möglich. Der Vorteil bei diesen Darreichungsformen ist, dass sie passiv über die Mundschleimhaut in den Blutkreislauf gelangen. Zur unterstützenden Versorgung mit B₁₂, kann auch auf mit B₁₂ angereicherte Zahnpasta zurückgegriffen werden. Wenn bereits erste Mangelerscheinungen aufgetreten sind, wird eine Vitamin B₁₂-Spritzenkur empfohlen. Das Vitamin wird dabei subkutan verabreicht und kommt somit direkt in den Blutkreislauf.

Eine Überdosierung von Cobalamin ist sehr unwahrscheinlich, da es durch seine wasserlösliche Eigenschaft mit dem Urin abgeführt werden kann. Des Weiteren konnte selbst bei einer 10.000-fachen Überdosis von Methylcobalamin kein toxischer Effekt nachgewiesen werden. In seltenen Fällen können allergische Reaktionen auftreten (www.vitaminb12.de 12.12.2017).

3.5 Vitamin-B₁₂ im menschlichen Körper

3.5.1 Vitamin-B₁₂-abhängige Reaktionen

Vitamin B₁₂ nimmt an verschiedenen Stoffwechselreaktionen teil. Es übernimmt wichtige Funktionen im Bereich des Eiweißstoffwechsels sowie des Nervensystems und trägt zur Bildung von roten Blutkörperchen bei. Des Weiteren unterstützt es das Zellwachstum und die Regeneration der Schleimhäute. In seiner Funktion als Co-Enzym ist es essentiell für die Methionin-Synthase und die Methylmalonyl-CoA-Mutase. Methylmalonyl-CoA-Mutase (MCM) katalysiert die Umlagerung von l-Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA. Dieser Prozess ist reversibel. Adenosylcobalamin fungiert dabei als Cofaktor. Beispielhaft wird der Ablauf des Methylierungszyklus im folgendem genauer beschrieben.

Methionin-Synthase

Die Reaktion der Methionin-Synthase dient der Remethylierung von Homocystein. Methionin wird zunächst durch ATP und unter Abspaltung von Pyrophosphat und Phosphat zu S-Adenosyl-Methionin (SAM) umgewandelt. SAM dient nun als Methylgruppendonator. Die Abgegebene Methylgruppe wird unter anderem für viele Synthesen und Entgiftungsreaktionen im

Stoffwechsel verwendet. Es stammen beispielsweise die Methylgruppe des Kreatins, Cholins und Adrenalins vom S-Adenosylmethionin (SAM). Das nun entstandene SAM wird zu Adenosin sowie L-Homocystein hydrolysiert. Durch Abgabe einer CH-Gruppe wird aus Homocystein Cystein. Dieser Vorgang ist an das Vorhandensein von Vitamin B₆ gekoppelt. Um aus Homocystein wieder Methionin bilden zu können, wird das Enzym Methionin-Synthase benötigt. Es metabolisiert 5-Methyltetrahydrofolat (5-Methyl-THF) zu Tetrahydrofolat (THF). Dabei nimmt Cobalamin eine Methylgruppe auf. Diese aufgenommene Methylgruppe wandelt Homocystein wieder in Methionin um (www.dach-liga-homocystein.org 19.03.2018). Dieser Vorgang ist in der nachstehenden Abb. 3 schematisch dargestellt. Ist dieser Vorgang gestört, kann es zu einem Anstieg von Homocystein im Blut kommen. Dies ist häufig ein Indiz für einen Vitamin-B₁₂-Mangel. Weiterhin in ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten Homocysteinspiegel und einigen Krankheiten zu erkennen. So steigt beispielsweise das Schlaganfallrisiko, die Gefahr an Alzheimer und Demenz zu erkranken, sowie eine Beeinträchtigung der Knochengesundheit (www.vitaminb12.de 19.03.2018).

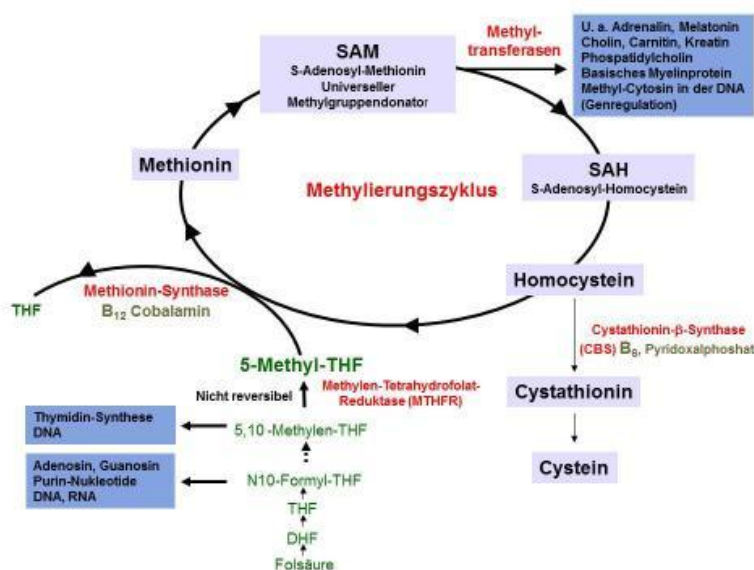


Abb. 3: Methylierungszyklus (www.dach-liga-homocystein.org 19.03.2018)

3.5.2 Absorption

Das durch die Nahrung aufgenommene Vitamin B₁₂ ist häufig an ein Protein gebunden. Dadurch wird es vor Zersetzung geschützt und liegt in einer aufnahmefähigen Form vor. Im Magen spalten Proteasen und die Magensäure das Vitamin von dem Protein ab. Anschließend wird das Vitamin an ein Transportprotein, dem R-Faktor, gebunden. (Kysil, 2014). Der R-Faktor wird be-

reits im Mund von den Mundspeicheldrüsen produziert. Nun gelangt es in den oberen Dünndarmabschnitt. Unter basischen Bedingungen erfolgt dort durch Einwirkung von Trypsin, einem Verdauungsenzym, eine Abspaltung des Vitamins vom R-Faktor. Das so freigewordene B₁₂ bindet sich an ein weiteres Transportprotein, dem Intrinsic Factor (IF). Der IF wird im Magen von den Parietalzellen gebildet und schützt das Vitamin vor bakteriellem und enzymatischem Abbau. Im unteren Abschnitt des Dünndarms bindet sich der Vitamin-B₁₂-IF-Komplex an spezielle Rezeptoren der Brush Border Membran, wodurch es durch die Zellmembranen aufgenommen werden kann. Für diesen Vorgang wird Calcium benötigt. Durch Enzyme in den Endosomen der Zellen wird das Vitamin wieder vom IF getrennt und bindet sich an ein weiteres Transportprotein, Transcobalamin II (TC2) und wird schließlich in das Blutplasma transportiert. So gelangt eine Teilmenge vom aufgenommenen Vitamins B₁₂ in die Körperzellen. Ein anderer Teil heftet sich an zwei weitere Transportproteine (TC1 und TC2) und wird zu 60 % in der Leber und zu 40 % in den Muskeln gespeichert (Kysil, 2014). Der B₁₂-TC2-Komplex, der in die Körperzellen gelangt, wird im Inneren der Zelle in Hydroxocobalamin umgewandelt und gelangt in dieser Form in das Zellplasma. Nun wird das Vitamin B₁₂ in die zwei bioaktiven Co-Enzym-Formen von Vitamin B₁₂ umgewandelt. In der Zelle selbst, besonders in den Zellen des Zentralnervensystems, wird Methylcobalamin benötigt, das eine wichtige Rolle bei der Methionin-Synthese spielt. In den Mitochondrien hingegen, wird Adenosylcobalamin benötigt. Dieser Prozess wird als aktive Absorption bezeichnet. Unabhängig von der zugeführten Menge werden höchstens 1,5 – 2 µg B₁₂ pro Mahlzeit aufgenommen, da das Aufnahmevermögen der Schleimhaut des unteren Dünndarms für den Cobalamin-IF-Komplex begrenzt ist. Durch die IF-vermittelte B₁₂-Resorption können am Tag bis zu maximal 4,5 µg aufgenommen werden. Etwa ein Prozent von dem mit der Nahrung aufgenommenen B₁₂ gelangt ohne vorherige Bindung an den Intrinsic Faktor, unspezifisch in die Blutbahn. Dieser Vorgang wird auch als passive Aufnahme bezeichnet. Das B₁₂ kann zum Teil direkt von den Zellen aufgenommen werden (www.vitalstoff-lexikon.de 10.12.2017).

3.5.3 Vitamin-B₁₂-Mangel

Ein Mangel bei gesunden Menschen ist eher ungewöhnlich (Nakos et al., 2017). Es gibt prinzipiell zwei Ursachen weswegen trotzdem ein B₁₂-Mangel auftreten kann. Zum einen eine unzureichende Aufnahme des Vitamins und zum anderen physiologische Probleme. Eine einseitige Ernährung oder spezielle Kostformen wie bei Veganern, können zu einer unzureichenden Versorgung von B₁₂ führen. Zu den physiologischen Ursachen, zählt auch die verringerte Aufnahmefä-

higkeit mit zunehmendem Alter. Unabhängig von den Ursachen veranschaulicht Abb. 4 den Verlauf und die möglichen Auswirkungen eines B₁₂-Mangels.

Zunächst treten keine Symptome auf. Der Körper kann von dem, in den vergangenen Jahren angelegten, B₁₂-Speicher in Muskel- und Leberzellen zehren. Ein geringer Anteil des B₁₂'s kann außerdem von der Galle wiederverwertet werden. Erst nach drei bis vier Jahren der „Cobalamin-Abstinenz“, ist der körpereigene Speicher erschöpft (Burgess et al., 2009). Wenn der Körper auf diese Reserven zurückgreift, treten zunächst leichte Mangelerscheinungen auf. Diese sind eher unauffällig und werden meist noch nicht direkt mit einem B₁₂-Mangel in Verbindung gebracht. Die Betroffenen fühlen sich häufig müde und matt, sind infektionsanfällig und klagen über Stimmungsschwankungen (Nakos et al., 2017).

Erst wenn der B₁₂-Speicher erschöpft ist, treten ernstzunehmende Symptome auf. Diese sind zum Teil irreversibel und benötigen eine schnellwirksame Therapie, wie z. B. die der B₁₂-Injektionen. Vorab sollte allerdings die Ursache des B₁₂-Mangels geklärt werden, um die richtige Therapieform auswählen zu können. Häufig treten physische Beschwerden, wie Niedergeschlagenheit oder Verlust des Langzeitgedächtnisses auf, aber auch Nervenschmerzen, Lähmungen, Blutarmut und Koordinationsstörungen sind typisch (www.vitaminb12.de 01.11.2017).

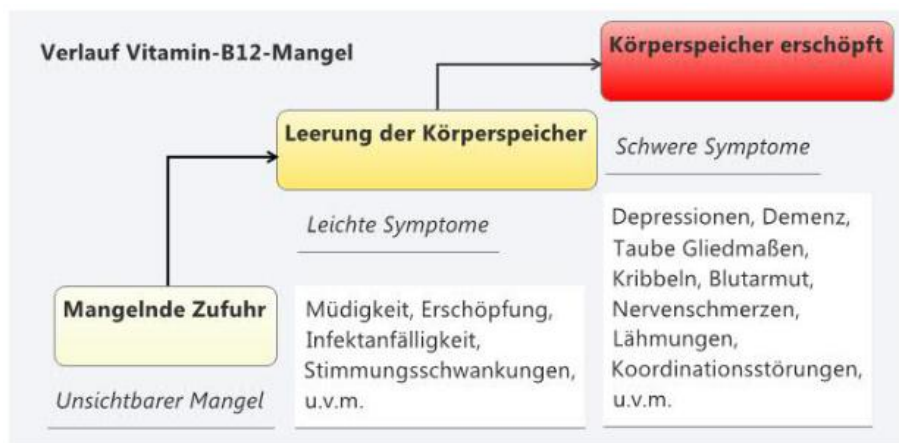


Abb. 4: Auswirkungen einer unzureichenden Vitamin-B₁₂-Versorgung (www.vitaminb12.de 01.11.2017)

Die Vitmin-B₁₂-Aufnahme kann durch verschiedene Faktoren erschwert werden. Wird beispielsweise nicht ausreichend IF produziert, kann der Vitaminkomplex nicht in den Dünndarm transportiert werden. Die aktive B₁₂-Aufnahme entfällt somit vollständig. Dies ist die häufigste physiologische Ursache eines B₁₂-Mangels. Sie tritt häufig im fortgeschrittenen Alter auf. Um allein mit der passiven B₁₂-Aufnahme den Tagesbedarf zu decken, sind 300 µg nötig, vorausge-

setzt wird eine intakte Darmflora. Auch eine Reizung der Darmschleimhaut oder einer Erkrankung der Pankreas führt zu einer verminderten Aufnahmefähigkeit. In seltenen Fällen besteht ein Mangel an R-Binder-Proteinen. Dadurch kann das Vitamin nicht transportiert werden. Diesem Defizit liegt eine genetische Störung zugrunde. Auch ein Überschuss an B₁₂-Analoga, z. B. durch bakterielle Übersiedlung, ist nachteilig für die B₁₂-Resorption. Die Analoga können sich auch an die R-Binder-Proteine heften, wodurch keine mehr für die aktive B₁₂-Form frei sind.

Als Folge einer unzureichenden Versorgung mit B₁₂ kann der Homocysteingehalt im Blut ansteigen. Bereits ein leichter Anstieg erhöht das Risiko für Herz-Kreislauserkrankungen. (www.vitaminb12.de 01.11.2017). Erst nach drei bis vier Jahren wäre der körpereigene Speicher erschöpft. Vitamin B₁₂ wird außerdem aus der Galle wiederverwertet (Burgess et al., 2009).

4 Analyseverfahren

4.1 Mikrobiologisch

Einige Organismen wie Vertreter der Laktobazillen benötigen zum Wachstum Vitamin B₁₂. Die Wachstumsrate und die Vitaminkonzentration sind über eine bestimmte Spanne proportional (Ross, 1952). Die Vermehrung wird eingestellt, sobald das Vitamin aufgebraucht ist. Dieser Fakt wird zum Nachweis von Vitamin B₁₂ ausgenutzt. Eine anschließende photometrische Messung, sowie der Vergleich mit einer Kalibrationsgeraden, gibt Aufschluss über die Vitamin-B₁₂-Konzentration (ifp Hrsg., 2017). Die „Association of Official Analytical Chemists“ (AOAC) hat 1952 den Nachweis von Cobalamin mittels *Lactobacillus leichmannii* als offizielle Methode eingeführt. Dieses Verfahren wurde ursprünglich für Reinsubstanzen und zur Bestimmung von Vitamin B₁₂ in Vitaminpräparaten entwickelt (AOAC, 1952).

Im Jahr 2014 überprüfte Kysil die Testmethode „AOAC 952.20“ auf ihre Anwendbarkeit auf pflanzliche Extrakte. Dazu wurden die Wiederfindungsraten des Cyanocobalamins in Fleisch- und Sanddornbeerenextrakten verglichen. Die Proben wurden mit einer definierten Menge Cyanocobalamin versetzt. Die Ergebnisse der Untersuchung sind in Abb. 5 dargestellt.

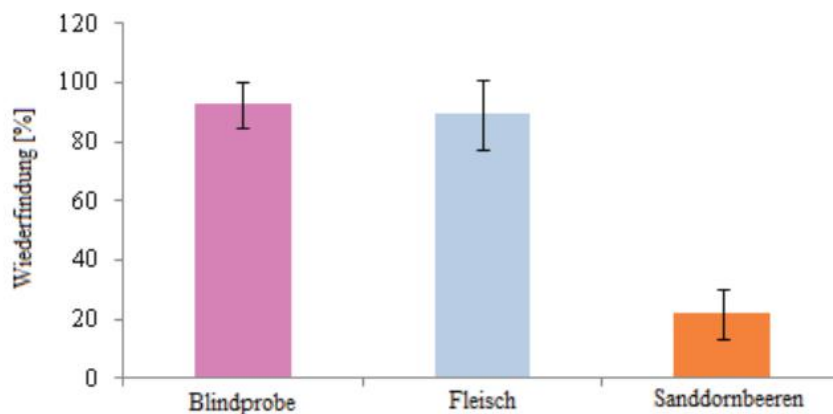


Abb. 5: Wiederfindungsrate mittels MBA nach AOAC (Kysil, 2014)

Die Wiederfindungsrate der tierischen Probe liegt zwischen 90 - 92 %, ähnlich dem Blindwert. Der Sanddornbeeren-Extrakt erreicht einen maximalen Wert von 22 %. Kysil schlussfolgerte daraus, dass die Beeren wachstumsbeeinflussende Komponenten für *Lactobacillus delbrueckii subsp. leichmannii* enthalten. Diese sogenannten „Matrixprobleme“ werden in Kapitel 4.4 genauer betrachtet. Herbert (1988) gibt zu bedenken, dass das für Bakterien aktive B₁₂, nicht

zwangsläufig dem des für den Menschen bioverfügbaren entspricht. Die Spezies *L. delbrueckii* verwertet neben Cbl auch Desoxyriboside und Desoxyribonukleotide. Diese beiden Verbindungen werden auch als alkaliresistente Faktoren bezeichnet. Von der ermittelten B₁₂-Menge müssen die Werte der alkaliresistenten Faktoren abgezogen werden. Dies demonstrierten Bito et al., (2013) in einem Versuch mit Salatblättern, auf B₁₂-angereicherter Hydrokultur. Auch die Untersuchungen von Watanabe et al. (1999) weisen darauf hin. Zusätzlich schreibt er, dass *L. leichmannii* sowohl die für den Menschen aktive, also auch die inaktiven Vitamin-B₁₂-Formen verwerten kann. Somit wird mit dieser Methode nicht nur bioverfügbares B₁₂ analysiert. Watanabe erwähnt außerdem, dass die mikrobiologische und IF-Chemilumineszenz-Methode nahezu gleiche Analyseergebnisse liefern. Die Korrelation der beiden Verfahren liegt bei $r = 0,99$. Ausnahme bilden Proben die große Mengen an inaktiven Vitamin B₁₂ enthalten. Dies wurde in einem Versuch mit *Spirulina*-Tabletten gezeigt. Die mikrobiologische Analyse ergab acht Mal höhere Werte als die IF-Chemilumineszenz Analyse. Insgesamt ist zu sagen, dass diese Methode für einen ersten Überblick geeignet ist. Als alleinige Methode um die Menge an aktivem B₁₂ zu bestimmen ist sie ungeeignet. Das RID unter Verwendung des IF ist in der Lage B₁₂-Analoga zu unterscheiden. Des Weiteren bedarf es durch die sterilen Apparaturen einem hohen Arbeits- und Zeitaufwand. Es besteht ferner die Gefahr einer Fremdkontamination durch Mikroorganismen aus der Luft (Kysil, 2014).

4.2 Radioisotopenverdünnung (RID)

Die RID ermöglicht eine Unterscheidung zwischen aktivem B₁₂ und anderen Cobalamid-Verbindungen. Dafür wird die Probe zunächst mit einem Denaturierungsmittel inkubiert. Somit ist das B₁₂ nicht mehr an Proteine gebunden. Weiterhin wird die Probe mit einem „Tracer“ versetzt. Meistens handelt es sich dabei um radioaktives Cyanocobalamin. Anschließend wird das Glykoprotein IF verwendet. Dieses wird häufig von Schweinen extrahiert. Es wird die Tatsache ausgenutzt, dass sich nur für den Menschen aktives B₁₂ an den IF haftet. Nun konkurrieren das markierte B₁₂ und das aus der zu untersuchenden Probe um freie Bindungsstellen. Mittels beschichteter Kohle wird die proteingebundene Fraktion nun von der freien Vitaminfraktion abgetrennt. Durch Messung der markierten Cyanocobalaminaktivität in der Proteinfraction und unter Verwendung geeigneter Standardkurven kann der B₁₂ -Gehalt der Probe ermittelt werden (Mozafar, 1994).

4.3 Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung

Dieses Verfahren dient zur exakten Identifizierung und Quantifizierung von reinen Substanzen und Substanzgemischen. Häufig wird die Abkürzung LC-MS/MS (Liquid-Chromatographie-Massenspektrometrie/Massenspektrometrie) verwendet. Durch eine Kombination von Flüssigchromatographie (LC) und Massenspektrometrie (MS) lassen sich Moleküle trennen und bestimmen. Die Chromatographie dient dabei zur Auftrennung von Molekülen in einem Stoffgemisch. Die anschließende Massenspektrometrie quantifiziert und/oder identifiziert die Substanz. Durch mehrere nacheinandergeschaltete Massenspektrometer-Einheiten ergibt sich eine Kopplungsmöglichkeit, die als Tandem-MS oder auch MS/MS bezeichnet wird. Die erste MS-Einheit zeigt den gesamten Massenbereich an. Je nach Probe, wird eine Masse ausgewählt und abgetrennt. Anschließend wird diese in einer Stoßkammer „zerkleinert“. Die so entstandenen Fragmentmuster sind substanzspezifisch. Dies ermöglicht eine höchst selektive Bestimmung der zu untersuchenden Substanz. Zum Teil werden bei diesem Verfahren noch ein Detektor wie z. B. UV/VIS- oder Leitfähigkeitsdetektoren zwischengeschaltet. Als Schnittstelle zwischen Chromatographie und Massenspektrometrie wird häufig ein Ionisierungsverfahren, wie z. B. Elektrospray-Ionisation (ESI) eingesetzt. Dieser Schritt ist nötig um das Probenvolumen zu verringern und das Lösungsmittel zu entfernen, da diese die nachfolgenden Analyseschritte erschweren können (LCI, 2002).

Dieses Verfahren ermöglicht die exakte Identifizierung und Quantifizierung einzelner Corrinoiden. Somit kann der Anteil, an für den Menschen aktiven Cobalamin, zuverlässig gemessen werden. Watanabe et al. (2013) nutzen das Verfahren um die Bioverfügbarkeit einzelner Nahrungsquellen zu ermitteln. Sie untersuchten beispielsweise essbare Schalentiere wie Abalonen, Archenmuscheln und Wellhornschnecken. Sie enthalten große Mengen an Pseudo-B₁₂, Faktor A (2-methyladenylcobamide), Faktor S (2-methylmercaptoadenylcobamide) und/oder Faktor III_m (5-methoxybenzimidazolylcobamide) sowie B₁₂. Daher eignen sie sich nicht als B₁₂-Quelle. Ferner empfehlen sie weitere detaillierte Analysen von Corrinoid-Verbindungen in verschiedenen tierischen Lebensmitteln mittels LC/ESI-MS/MS. Dies könnte eine neue Bewertung einiger tierischer B₁₂-Quellen zur Folge haben.

4.4 Einfluss- und Störfaktoren

Die Untersuchung des B₁₂-Gehalts kann durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. Die gängigen Analyseverfahren sind auf den Nachweis von tierischen Produkten ausgelegt. Erst durch die Zunahme der veganen Ernährungsweise bestehen genügend Anreize für Vitamin-B₁₂-

Analysen in Pflanzen. Strukturelle Unterschiede zwischen Pflanzen und Tieren können die Ergebnisse verfälschen. Von großer Bedeutung sind neben üblichen Störfaktoren, wie Temperatur, Probengröße und Homogenität, die sogenannten Matrixprobleme. Diese bezeichnen Verbindungen innerhalb der Pflanze, die den Cobalamingehalt der Probe verändern oder maskieren können. Erschwerend kommt hinzu, dass aktives B₁₂ schwer von strukturell ähnlichen Verbindungen abgegrenzt werden kann. Des Weiteren beeinflussen verschiedene Faktoren die Bioaktivität von Vitamin B₁₂ in Lebensmitteln. Zum Beispiel ist Vitamin B₁₂ teilweise abgebaut und verliert seine biologische Aktivität während der Zubereitung (Watanabe et al., 2013).

Matrixprobleme

Nakos et al. untersuchten 2017 den Einfluss von Vitamin C und Kupferionen zur Bestimmung des B₁₂-Gehaltes in Sanddornbeeren. Die Beeren wurden zunächst durch eine Immunoaffinitätsäule aufgereinigt und anschließend mit Vitamin C und/oder Kupferionen versetzt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte mittels HPLC. Als Vergleichswert diente eine Sanddornbeerenprobe ohne die oben genannten Zusätze. Durch die Zugabe von Vitamin C sank die gemessene Cobalaminkonzentration um ca. 26 %. Dieser Effekt wurde durch die Zugabe von Kupferionen noch verstärkt. Hier war ein Verlust von 41 % zu verzeichnen. Allerdings verändert die alleinige Zugabe von Cu²⁺ das Resultat nur um 6 %. Nakos et al. (2017) schrieb von einer „destruction of vitamin B₁₂“ durch die getesteten Komponenten. Durch die Zugabe von Carnosin (wasserlösliches Antioxidans) oder EDTA konnte dieser Verlust gemildert werden. Die Veränderung war in Nakos Experiment aber nicht signifikant. Kysil (2014) beobachtete ein ähnliches Phänomen, allerdings nutzte sie eine mikrobielle Nachweismethode mittels *Lactobacillus delbrueckii subsp. leichmannii* und anschließender photometrischer Bestimmung des B₁₂-Gehaltes. Sie geht hingegen nicht von einer „Zerstörung“ des Vitamins aus, sondern von einer Wachstumshemmung der Mikroorganismen. Es wurden folgende Verbindungen, in dem für Sanddornbeeren durchschnittlichen Gehalt, untersucht: Vitamin C, Quercetin und Chinasäure. Diese Komponenten wurden jeweils einzeln mit einer Cyanocobalamin-Standardlösung versetzt. Es zeigte sich, dass nach anfänglicher Zunahme des Mikroorganismengehaltes, das Wachstum auf einem konstanten Niveau verbleibt. Kysil schlussfolgerte daraus, dass sich Quercetin wachstumshemmend auf die eingesetzten Lactobacillen auswirkt. Chinasäure hingegen wirkte sich wachstumsfördernd aus. Zudem war eine durchschnittliche Abweichung zur Standardlösung von 25 % zu verzeichnen. Ähnliche Resultate lieferte die Zugabe von Vitamin C. Bei allen getesteten Komponenten geht das ursprünglich lineare Wachstum verloren. Der Einfluss von Vitamin C wurde auch von Wata-

nabe et al. (2013) untersucht. In B₁₂-haltigen Multivitaminpräparaten konnte eine erhebliche Menge durch die Zugabe von Vitamin C und in Anwesenheit von Kupfer abgebaut werden.

Temperatureinfluss

Narkos untersuchte, neben dem Einfluss von Kupferionen und Vitamin C, auch den Einfluss der Temperatur in Kombination mit den Zusätzen. Die Sanddornbeerenproben wurden für 30 Minuten auf 100 °C erhitzt. Als Referenzwert führte er dieselbe Untersuchung bei Raumtemperatur durch. Den geringsten Einfluss zeigt die Temperatur auf die Probe, die nur mit B₁₂ versetzt wurde. Lediglich ca. 4 % des Vitamins wurden „zerstört“. Durch Zugabe von Kupferionen kann der Effekt um ein vielfaches verstärkt werden, ca. 23 % gingen verloren. Eine Kombination aus Vitamin B₁₂, Vitamin C, Kupferionen und Temperaturerhöhung verursachte einen fast vollständigen Verlust von ca. 89 % des Vitamins B₁₂, siehe Abb. 6 (Nakos et al., 2017).

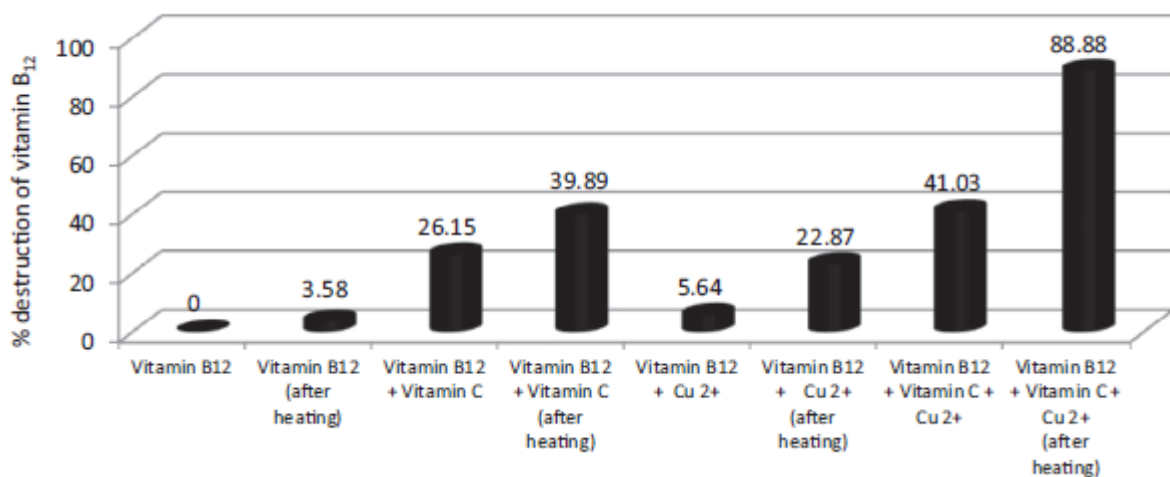


Abb. 6: Einfluss von Vitamin C und Kupferionen auf die Konzentrationsbestimmung bei unterschiedlichen Temperaturen von Vitamin B₁₂ (Nakos et al., 2017)

Auch die Veröffentlichung von Watanabe et al. (2013) weist auf einen verstärkten B₁₂-Abbau durch eine Temperaturerhöhung hin. Durch Hitze und Lagerung kann die biologische Aktivität von B₁₂ abnehmen. Am Beispiel vom Hering zeigte er, dass der B₁₂-Gehalt durch die thermische Essenszubereitung um etwa 62 % abnimmt. Seine Forschungsergebnisse zeigen eine Temperatur-Zeit-Abhängigkeit. Auch die häufig verwendeten Mikrowellenherde für die Lebensmittelverarbeitung tragen zu einem nennenswerten Verlust von Hydroxocobalamin bei.

5 Vitamin B₁₂ in Pflanzen

5.1 Vorkommen

Weder Pflanzen noch Pilze benötigen Vitamin B₁₂ zum Wachstum, noch produzieren sie es selbst. Dennoch gibt es immer wieder Veröffentlichungen, in denen B₁₂ in Pflanzen untersucht wird (Watanabe et al., 2013). Verschiedene Möglichkeiten, wie Pflanzen und Pilze dennoch an B₁₂ gelangen, werden im folgenden Abschnitt beschrieben.

Die Betrachtung der B₁₂-Kontamination durch an der Pflanze anhaftende Erdreste werden außer Acht gelassen, da ein gründliches Waschen vor dem Verzehr der Pflanzen aus hygienischen Gründen empfohlen wird. Der Reinigungsvorgang schützt vor allem vor Infektionen mit Campylobacteriose und Salmonellose (DGE, 2015).

5.1.1 Symbiose

Einige Bodenbakterien leben in Symbiose mit Pflanzen. Sie dringen in die Wurzelzellen ein und bilden sogenannte Wurzelknöllchen aus, in denen sie sich vermehren und Stickstoff binden. Aktinobakterien der Gattung *Frankia* können eine solche Beziehung eingehen. Sie besiedeln das Wurzelsystem der meistens verholzten Arten von bedecktsamigen Pflanzen (*Magnoliopsida*) wie z. B.: Erle (*Alnus*), Ölweide (*Elaeagnus*), Sanddorn (*Hippophae*) und Gagelstrauch (*Myrica*); siehe Abb. 7. Diese werden auch als Aktinorhiza-Pflanzen bezeichnet und wachsen vorrangig auf stickstoffarmen, vegetationsfreien Böden (Triplett et al., 2007). Durch den Stickstoffmangel scheidet die Wurzel Flavonoide aus und bildet durch die Mikroorganismen zahlreiche Wurzelknöllchen. Diese Bildung wird jedoch durch alte Knöllchen gehemmt. Somit ist die Anzahl der gebildeten Knöllchen auch bei Stickstoffmangel begrenzt (Kadereit et al., 2014). *Frankia* sp. produziert intrazelluläres Vitamin B₁₂. Dies wird vollständig für das Wachstum der Bakterien genutzt und nicht ausgeschieden. Zwischen Symbiont und Wirtspflanze findet nur ein geringfügiger Austausch von Cobalamin statt.

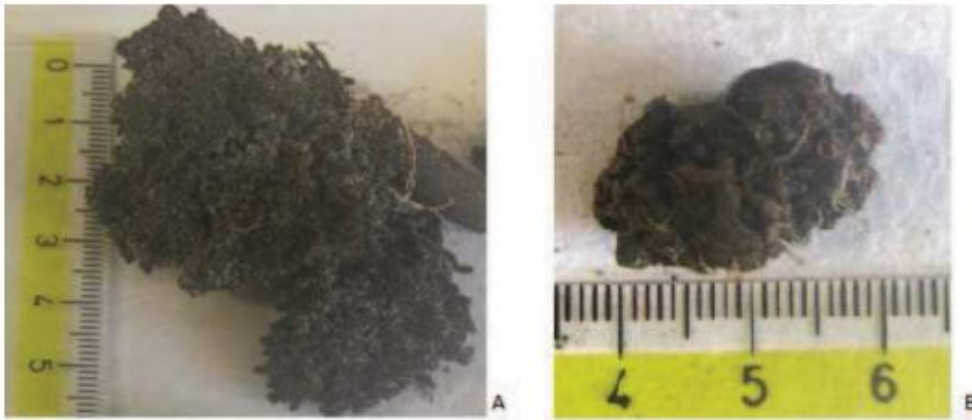


Abb. 7: Morphologie der Sanddorn-Wurzelknöllchen (Kysil, 2014)

A: Wurzelknöllchen des wildwachsenden Sanddorns; **B:** Wurzelknöllchen des kultivierten Sanddorns

1978 gelang die erste Isolierung des *Frankia*-Stammes aus einer Pflanze der Gattung der Gagelstrauchgewächse. Es zeigt sich, dass die Bakterien auch ohne Wirt überlebensfähig sind. Jedoch erschwert das langsame Wachstum und die zum Teil noch unklaren Kultivierungsbedingungen der verschiedenen Stämme weitere Untersuchungen. Durch stickstofffreie Düngung der Anbauböden wird die Symbiose beeinträchtigt, bis hin zur vollständigen Zerstörung des Symbionten. (Kysil, 2014).

5.1.2 Fermentation

Fermentierte Lebensmittel entstehen durch das Einsetzen verschiedener Bakterienkulturen, zum Teil zur Veredlung von Produkten. Dabei wird zwischen Gärungsprozessen und dem Einsetzen von Schimmelpilzen unterschieden. Häufig werden Tempeh, Sauerkraut, Bier und schwarzer Tee als fermentierte Lebensmittel mit möglichem B₁₂-Gehalt aufgezählt (Nakos et al., 2017). Auch bei der Herstellung von Sauerteig sowie der Veredlung und Haftbarmachung von Fleisch- und Milcherzeugnissen können solche Produkte Spuren von Vitamin B₁₂ enthalten. Der Gehalt kann allerdings den Tagesbedarf an B₁₂ nicht decken (Kysil, 2014).

5.1.3 Vitamin-B₁₂-Anreicherung in Pflanzen

Eine Vielzahl von Veröffentlichungen zeigen, dass die Verwendung von organischem Dünger den Vitamingehalt einiger Pflanzen deutlich erhöhen kann. Mozafar et al. (1994) verwendeten Kuhdung um den Vitamin-B₁₂-Gehalt von Nutzpflanzen zu erhöhen. Mozafar geht davon aus, dass der organische Dünger den Erdboden mit B₁₂ anreichern kann. Einige Pflanzen sind in der Lage Vitamin B₁₂ aus dem Boden zu absorbieren. Er versuchte den B₁₂-Gehalt von Sojabohnen-

samen, Gerstenkörnern und Spinatblättern zu erhöhen. Die Erde der Pflanzen wurde entweder mit Kuhdung oder direkt mit einer B₁₂-Lösung versehen. Analog zu diesem Versuch gab es keine Kontrollgruppe. Es zeigte sich, dass bei den Sojabohnensamen auf Kuhdungbasis, der B₁₂-Gehalt sich nicht signifikant verändert hat. Bei den Spinatblättern wurde der Gehalt um mehr als das Doppelte erhöht, von 0,69 auf 1,78 µg pro 100 g Trockengewicht. Dies entspricht für angereicherten Spinat laut Watanabe et al. (2014) 0,14 µg pro 100 g Frischgewicht. Die Gerstenkörner zeigten den größten Effekt, hier stieg der Wert von 0,26 auf 0,91 µg pro 100 g Trockengewicht. Dennoch ist zu beachten, dass gerade in organischem Dünger von Tieren ein erheblicher Anteil an inaktivem Corrinoid vorliegt (Watanabe et al., 2014). Bito et al. (2013) untersuchte mit B₁₂-angereicherte Salatblätter, die durch Hydrokulturen kultiviert wurden, siehe Abb. 8. Dafür wurden Butterkopfsalatsamen 24 Tage in schwarzen Kunststofföpfchen mit sandigem Boden gezüchtet. Anschließend wurden geeignete Sämlinge in Wasserkulturtöpfe überführt. Die Nährstofflösung in den Töpfen wurde kontinuierlich belüftet und mit Styrolschaum vor Lichteinwirkung geschützt. Nach 30 Tagen wurde Cyanocobalamin hinzugegeben 0; 1,5 und 10 µmol / L. Nach weiteren 24 Stunden erfolgte die Ernte. Die essbaren Teile der Pflanze wurden gewaschen und gefriergetrocknet. Die Probenlagerung erfolgte bis zur Weiterverarbeitung bei - 80 °C. Die Blätter wurden mit KCN sowie einem Acetatpuffer (pH 4,5) gekocht, um eine Umwandlung verschiedener Cobalamine zu Cyanocobalamin zu veranlassen. Dadurch wandeln sich die verschiedenen oberen Liganden (z. B. Cbl-Coenzyme) zu Cyanocobalamin um. Des Weiteren erfolgte eine Autoklavierung des zentrifugierten Extraktes. Als quantitative, mikrobiologische Nachweismethode wurde *Lactobacillus delbrueckii* eingesetzt (Methode ATCC 7830). Die endgültige Bestimmung des Cyanocobalamin-Gehalts erfolgte rechnerisch, unter Berücksichtigung der alkaliresistente Faktoren. Mittels LC/ESI-MS/MS konnte nachgewiesen werden, dass die Pflanzen ausschließlich Cyanocobalamin aus der Nährlösung absorbiert haben und keine andere Verbindungen wie inaktive Corrinoiden verändern. (Bito et al., 2013).

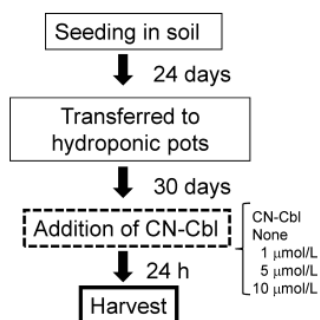


Abb. 8: Anreicherung von Kopfsalat in Wasserkultur mit Cyanocobalamin (Bito et al., 2013)

Das Experiment zeigte, dass obwohl der Salat kein B₁₂ zum Wachstum benötigt, dieses dennoch aufnehmen und konzentrieren kann. Die Cobalamin-Konzentration in der Nährlösung hat das Pflanzenwachstum (Gewicht pro Pflanze) nicht signifikant verändert. Jedoch ist ein schwacher Trend zu erkennen, mit zunehmender Cobalamin-Konzentration hat auch das Gewicht der Pflanzen zu genommen. Die Cobalamin-Konzentration in der Nährlösung und der Cobalamin-Gehalt von Salatblättern korreliert nur bis zu einem gewissen Grad miteinander. Die Pflanzen, die mit 1 µmol / L CN-Cbl-Konzentration in der Nährlösung behandelt wurden, enthielten 3,86 µg pro 100 g Frischgewicht. Ein Verbrauch von zwei dieser Pflanzen würde den RDA für Erwachsene decken. Eine Fünffach höhere Cyanocobalamin-Konzentration in der Nährlösung hat den B₁₂-Gehalt in den Pflanzen um mehr als das Vierfache erhöht, auf 16,46 µg pro 100 g Frischgewicht. Eine erneute Steigung des Cbl-Gehalts in der Nährlösung auf 1 µmol / L CN-Cbl zeigte keinen Effekt. Der Wert sank auf 15,49 µg pro 100 g Frischgewicht.

In der Studie konnte gezeigt werden, dass der Cbl-Gehalt in Salatblättern (max. ≈ 17 µg / 100 g Frischgewicht) bei einer CN-Cbl-Konzentration von 5 µmol / L eine Sättigung erreicht.

Bei Salatblättern, die mit 5 µmol / L CN-Cbl behandelt wurden, würde der Verzehr von nur zwei oder drei Blättern ausreichen um die benötigte Tagesdosis an Vitamin B₁₂ zu decken. Die Pflanzen konnten nur 0,03 % des in den 1 und 5 µmol / L-Lösungen enthaltenen CN-Cbl aufnehmen. Bei 10 µmol / L CNCbl waren es nur noch 0,02 %.

Durch Parallelexperimente konnte gezeigt werden, dass sich die Konzentration von Cyanocobalamin, in der Nährlösung, während der Kultivierungszeit, nicht signifikant veränderte.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass CN-Cbl angereicherte Salatblätter eine hervorragende Quelle für freies CN-Cbl, insbesondere für Vegetarier und ältere Menschen, wären (Bito et al., 2013).

5.2 B₁₂-Untersuchungen in nicht-tierischen Lebensmitteln

Im folgenden Abschnitt soll geklärt werden, welche nicht-tierischen Lebensmittel Vitamin B₁₂ enthalten. Die möglichen Ursachen wurden bereits im Kapitel 5.1 beschrieben. Des Weiteren soll die Bioverfügbarkeit geprüft werden und geklärt werden, ob die Lebensmittel einen nennenswerten Teil zur Deckung des Tagesbedarfs an B₁₂ leisten können.

5.2.1 Höhere Pflanzen

Das Unternehmen Teutopharma GmbH hatte Anfang der 90er Jahre Nährstoffpräparaten mit pflanzlichem Vitamin B₁₂. Das Präparat wurde auf Basis von Sanddorn-Extrakten produziert. Allerdings nahm der Vitamin B₁₂-Gehalt stetig ab, so dass die Produktion 2010 eingestellt werden musste. Kysil untersuchte verschiedene Sanddornbeeren auf ihren B₁₂-Gehalt, u. a. auch die der Firma Teutopharma. Ihre Analyseergebnisse zeigen eine große Schwankungsbreite im Bezug auf den Vitamin-B₁₂-Gehalt. Die Ergebnisse der Untersuchung von Kysil (2014) und einigen anderen Forschern sind in Tab. 5 dargestellt. Die Sanddornbeeren von der Firma Teutopharma GmbH weisen von nicht nachweisbaren Mengen bis 3,41 µg / 100 g Probe auf. Des Weiteren konnte kein B₁₂ in den Blättern dieser Pflanzen festgestellt werden. Dagegen konnten in den Wurzelknöllchen 0,9 µg / 100 g Vitamin B₁₂ nachgewiesen werden, wobei der Cobalamin-Gehalt sowohl von der Bakterien-Zellzahl als auch von dem Alter der Wurzelknolle abhängig ist. Viele *Frankia*-Stämme sind auf die von der Pflanze produzierten Wachstumsstoffe angewiesen. Wilde Sanddornbeeren aus der Norderney weisen nur Spuren von 0,32 µg / 100 g auf. Auf einer anderen Nordseeinsel, Langeoog, wurden dreimal so hohe Werte ermittelt. Sanddornsaft, Hergestellt aus wilden Sanddornbeeren der Ostsee, besitzt ca. 2,84 µg / 100 mL. Täglich ein Glas von diesem Saft würde den täglichen B₁₂-Bedarf fast vollständig decken. Die Proben wurden vorher mit B₁₂-Immunoaffinitätsäule von R-Biopharm aufgereinigt und anschließend mittels HPLC gemessen. Dieses Verfahren liefert verlässliche Werte in Bezug auf aktives Vitamin B₁₂ (Watanabe et al., 2013).

Tab. 5: Vitamin-B₁₂-Gehalt verschiedener Sanddornproben

Probe	K/W	µg / 100 g	Quelle
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	37 *	Nakos et al., 2017
Sanddornbeerensaft (Leh Valley, Himalaya)	k. A.	5,4	Stobdan et al., 2010
Sanddornbeeren, ökologischer Anbau	K	4,58	Nakos et al., 2017
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	3,41	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	2,84	Kysil, 2014

Sanddornbeerensaft (Ostseeküste)	W	2,84	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	2,08	Kysil, 2014
Sanddornsaft 100 % (Alnavit GmbH, Biekenbach)	K	0,76	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	0,76	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	0,67	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	0,62	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	0,57	Kysil, 2014
Sanddorndirektsaft (Storchennest GmbH, Ludwigslust)	K	0,33	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Norderney)	W	0,32	Kysil, 2014
Sanddornbeeren (Teutopharma GmbH, Glandorf)	K	n. n.	Kysil, 2014
Sanddornbeeren, Sorte Leikora (Ludwigslust)	K	n. n.	Kysil, 2014
Sanddornbeeren, Sorte Frugana (Ludwigslust)	K	n. n.	Kysil, 2014
Sanddornbeeren, (Langeoog)	W	n. n.	Kysil, 2014

* Angabe Bezogen auf das Trockengewicht der Probe

k. A. = keine Angaben

K = Probe aus kultivierten Sanddornbeeren

W = Probe aus wilden Sanddornbeeren

n.n. = nicht nachweisbar

Den höchsten B₁₂-Gehalt stellten Stobdan et al. (2010) fest. Sie ermittelten einen Wert von 5,4 pro 100 g Produkt. Die Sanddornbeeren wurden in einem Tal am Himalaya geerntet. Der B₁₂-Gehalt wurde ebenfalls mittels HPLC gemessen. Auch Sanddornbeeren aus ökologischem Anbau enthalten relevante Mengen an B₁₂, von 4,58 pro 100 g. Produkt Diese Beeren wurden ebenfalls durch eine B₁₂-Immunoaffinitätssäule (R-Biopharm) aufgereinigt und anschließend mit Hilfe

einer HPLC analysiert (Nakos et al., 2017). Validierungsstudien zeigen eine sehr gute Spezifität und Genauigkeit sowie Präzision des angewandten Verfahrens (Nakos et al., 2015).

In anderen Pflanzen wie, Brokkoli, Spargel, japanischer Pestwurz, Mungobohnen Sprossen, Tassa Jute und Wasserschild wurden nur Spuren von Vitamin B₁₂ identifiziert (Watanabe et al., 2014). Ausnahme bilden mit Vitamin-B₁₂ angereicherte Pflanzen, wie sie in Kapitel 5.1.3 beschrieben sind.

5.2.2 Fermentierte Lebensmittel

Durch Fremdkontamination können geringe Spuren von Vitamin B₁₂ in nahezu allen fermentierten Produkten vorkommen (Watanabe et al., 2013). Durch das gezielte zusätzen von bestimmten Milchsäure- und Propionsäurebakterien während der Temperaturführung können auch fermentierte Produkte einen hohen Vitamin B₁₂-Gehalt von ca. 10 µg / 100 g aufweisen (Watanabe et al., 2014).

Im Folgenden werden nur exemplarisch einige fermentierte Produkte genauer betrachtet. Andere Produkte, die eher selten mit Vitamin B₁₂ in Verbindung gebracht werden, werden lediglich in Tab. 6 aufgeführt.

Tempeh

Den Grundrohstoff für die Tempehproduktion bilden Sojabohnen. In ihnen konnten keine relevanten Mengen an B₁₂ nachgewiesen werden (Watanabe et al., 2014). Zur Herstellung werden die Bohnen fermentiert. Die eingesetzten Schimmelpilzkulturen, wie z. B. *Rhizopus oligosporus*, bilden keine nennenswerten Mengen an B₁₂. Außerdem wurde nachgewiesen, dass Tempeh, der in Kanada und Indonesien produziert wurde, signifikante Mengen B₁₂ enthielt, nachdem er mit einem anderen Bakterium verunreinigt wurde (Liem et al., 1977). Nakos (2017) berichtete von einem B₁₂-Gehalt zwischen 0,7 und 8 µg / 100 g pro Produkt. Diese Mengen könnten einen relevanten Beitrag zur Deckung des Tagesbedarfs beitragen. Es ist jedoch fraglich, ob die z. T. sehr hohen B₁₂-Werte durch den eigentlichen Fermentationsprozess zustande kamen oder eine Folge von Fremdkontamination sind. Auch wurden keine Angaben über die Analysemethode gemacht oder der Bioverfügbarkeit. Okada et al. (1983) konnten Spuren von 0,02-0,7 µg / 100 g pro Produkt in Tempeh mittels MBA nachweisen. Aus der Veröffentlichung geht nicht hervor, ob die alkaliresistenten Faktoren mitberücksichtigt wurden. Somit kann im Rahmen dieser Arbeit keine Aussage über die Bioverfügbarkeit von Vitamin B₁₂ in Tempeh getroffen werden.

Japanischer Schwarztee

Die Bioverfügbarkeit von fermentiertem, japanischem Schwarztee (Batabata-cha) wurde an Ratten untersucht. Dazu wurde Ratten mit einem B₁₂-Mangel täglich 50 ml des Getränks verabreicht. Der B₁₂-Mangel wurde an der Menge der durch den Urin ausgeschiedenen Methylmalonsäure gemessen. Nach sechs Wochen nahm der Methylmalonsäure-Gehalt signifikant ab. Dieser Versuch zeigt, das Batabata-cha für Ratten bioverfügbares B₁₂ enthält. In Japan ist ein Konsum von ein bis zwei Litern am Tag typisch. Diese Menge beinhaltet 0,2 bis 0,4 µg Vitamin B₁₂. Schwarztee kann also nur einen geringfügigen Beitrag zur B₁₂-Versorgung leisten. Auch andere Teeblättersorten enthalten nur geringe Mengen an Vitamin B₁₂, ca. 0,1-1,2 µg pro 100 g Trockengewicht (Watanabe et al., 2014).

Sauerkraut

Auch beim Sauerkraut sind die Messergebnisse sehr uneinheitlich. Laut Leitzmann (2013) ist Vitamin B₁₂ nur in Spuren vorhanden, Nakos et al. (2017) hingegen ermittelten Werte von bis zu 7,2 µg / 100 g.

Sollte darin tatsächlich verwertbares Vitamin B₁₂ enthalten sein, dann wäre die Menge jedoch ohnehin viel zu klein, um damit den Bedarf decken oder auch nur zur Deckung beitragen zu können.

Tab. 6: Vitamin-B₁₂-Gehalt von fermentieren Produkten

Produkt	µg / 100 g	Nachweißmethode	Quelle
Tempeh	0,7-8	k. A.	Nakos et al., 2017
	0,02-0,7	MBA	Okada et al., 1983
Teeblätter	0,1-1,2	MBA	Watanabe et al., 2014
	0,05-0,86	IF-Chemilumineszens	Kittaka-Katsura et al., 2004
Sauerkraut	in Spuren	k. A.	Leitzmann, 2013
	7,2	MBA	Rizzo et al., 2016
Sauerkrautsaft	0,49	RP-HPLC	Kysil 2014
Weinsauerkraut (Ja! Rewe)	1,22	RP-HPLC	Kysil 2014
Kimuchi	< 0,1 µg	k. A.	Watanabe et al., 2014

k. A. = keine Angaben

5.2.3 Algen und Cyanobakterien

Als Algen oder auch Seegrass werden verschiedene eukaryotische Lebewesen im Wasser bezeichnet. Sie alle haben die Eigenschaft Photosynthese zu betreiben. Als Nahrungsmittel können Rot-, Blau- und Grünalgen genutzt werden. Cyanobakterien werden aufgrund ihres äußeren Erscheinungsbildes traditionell zu den Blaualgen gezählt. Jedoch zählen sie zu den Prokaryoten und sind somit keine „echten“ Algen. Anhand der Größe können Algen in zwei Gruppen eingeteilt werden: Mikro- und Makroalgen. Mikroalgen sind mikroskopisch kleine Arten, zu denen insbesondere einzellige Formen gehören. Makroalgen dagegen können eine Länge von bis zu 60 Metern erreichen. *Porphyra yezoensis* ist eine Algenspezies, die angeblich genauso viel B₁₂ enthält wie eine Tierleber (Kumudha et al., 2015). In einer Veröffentlichung von Kumudha et al., (2015) heißt es: „Strenge Vegetarier können aus einigen Algen ausreichend bioverfügbares B₁₂ erhalten“. Laut eines japanischen Standardwerks für Lebensmittelzusammensetzungen enthalten 100 g Rotalgen ca. 77,6 µg Vitamin B₁₂. Die Mikroalge Chlorella soll in der Lage sein exogenes Cobalamin zu akkumulieren (Kumudha et al., 2015). In Chlorellatabletten wurde biologisch aktives B₁₂ gefunden. Der Gehalt ist allerdings von Hersteller zu Hersteller sehr unterschiedlich und reicht bis zu mehreren hundert µg Vitamin B₁₂ pro 100 g Trockengewicht (Watanabe et al., 2014). Auch die Grünalgenart *Chlamydomonas reinhardtii* ist in der Lage exogenes Cobalamin zu akkumulieren. Sie selbst benötigt es aber nicht zum Wachstum (Watanabe et al., 1999).

Purpurtang (*Porphyra sp.*), auch Porphyrtang genannt, gehört zum Stamm der Rotalgen und kommt weltweit an Meeresküsten vor (Braune, 2008). Sie enthalten ca. 32,3 µg / 100 g Trockengewicht B₁₂. Es ist zu beachten, dass die B₁₂-Konzentration stark variieren kann. In Neuseeland wurden 12,3 µg, auf lokalen Märkten in Taiwan 28,5 µg und im koreanischen Purpurtang sogar 133,8 µg / 100 g Trockengewicht festgestellt. Essbare Purpurblätter enthalten hauptsächlich die Coenzymformen von Vitamin B₁₂ und/oder Hydroxocobalamin. Die Bioverfügbarkeit wurde in einem Experiment an Tieren nachgewiesen. Dazu wurden Ratten mit einem B₁₂-Mangel mit *Porphyra yezoensis* gefüttert. Die Methylmalonsäure im Urin war nach 20 Tagen unterhalb der Nachweisgrenze und der B₁₂-Gehalt in der Leber nahm signifikant zu. Somit waren die Ratten in dem Experiment in der Lage Purpurtang als vitaminwirksame Quelle zu nutzen. Durch ein Experiment mit getrockneten Purpurtangblättern konnte gezeigt werden, dass die Verdauungsrate bei normaler Magenfunktion bei 50 % liegt. Bei einem niedrigen pH-Wert von 2,0, welcher bei einer schweren atrophischen Gastritis vorliegt, sank die Aufnahmefähigkeit auf ca. 2,5 %. Watanabe et al. (2014) schreiben, dass bereits 4 g getrocknete Purpurblätter (Vitamin B₁₂: 77,6 µg / 100 g Trockengewicht) ausreichen, um den RDA zu erfüllen. Dies sei in Japan kein Problem, da solche

Mengen oft schon zum Frühstück verzehrt werden. Die am häufigsten konsumierten Algen *Enteromorpha sp.* und *Porphyra sp.* enthalten relevante Mengen von ca. 63,6 µg / 100 g Trockengewicht und 32,3 µg / 100 g Trockengewicht B₁₂. Andere Arten weisen dagegen kein bzw. kaum Vitamin B₁₂ auf (Watanabe et al., 2014).

Auch in Noribättern konnte Vitamin B₁₂ nachgewiesen werden. Meistens handelt es sich bei dem Produkt um getrocknete und geröstete Blätter der Rotalge *Porphyra yezoensis*, die häufig für Sushi verwendet werden. Die Bioverfügbarkeit ist zum Teil durch inaktive B₁₂-Formen unklar (Croft et al., 2005). Auch Nakos et al. (2017) schreiben, dass die biologische Aktivität von B₁₂ bei essbaren Algen wie *Enteromorpha sp.*, *Porphyra sp.*, und Nori unklar sei. In einer Ernährungsanalyse von sechs Kindern, die vier bis zehn Jahre lang vegan ernährt wurden (hauptsächlich mit braunem Reis und Nori) konnten Hinweise auf die Verhinderung eines B₁₂-Mangels aufgezeigt werden. Eine weitere Untersuchung zeigt, dass die Hälfte der getesteten Algen B₁₂ zum Wachstum benötigen (Watanabe et al., 2014). Dies zeigt auch eine Veröffentlichung von Croft et al., (2005), siehe Tab. 7.

Tab. 7: Übersicht einiger Algen die Vitamin B₁₂ benötigen (Croft et al., 2005)

Phylum	Species surveyed	Require B ₁₂	Do not require B ₁₂
Chlorophyta	154	49	105
Glaucocystophyta	1	1	0
Rhodophyta	13	12	1
Cryptophyta	8	7	1
Dinophyta	30	26	4
Euglenophyta	15	13	2
Haptophyta	22	14	8
Heterokontophyta	83	49	34
Total	326	171	155

Sie benötigen es, genauso wie der Mensch, für die Methionin-Synthase. Einige Arten benötigen jedoch kein B₁₂ und weisen eine alternative Form der Methionin-Synthase auf, welche die gleichen Reaktionen katalysieren. *C. reinhardtii* und *C. merolae* enthalten ein Vitamin-B₁₂-unabhängiges Methionin-Synthase-Gen (MetE). Im Gegensatz dazu enthält die Vitamin-B₁₂-abhängige Alge *T. pseudonana* das Gen für die Vitamin-B₁₂-abhängige Methioninsynthase (MetH) (Croft et al., 2005). Ein anderer Fall trifft auf die Kieselalge *Phaeodactylum* zu. Sie benötigen kein B₁₂ zum Wachstum, nehmen es aber auf wenn es vorhanden ist und verwenden es auch. Es wird vermutet, dass sie über beide Wege verfügt.

Bis lang ist außerdem bekannt, dass heterotrophe Bakterien wie *Dinoroseobacter sp.* direkt verwendbares Vitamin B₁₂ produzieren. Dieses kann anschließend von Algen, für die B₁₂ essentiell ist, aufgenommen werden. Daher vermuten Helliwell et al. (2016), dass einige Algen in der Lage sind, in Anwesenheit von DMB Cobalamin aus Pseudocobalamin zu bilden. Jedoch konnte keiner ihrer Versuche dies eindeutig belegen. Ihre Untersuchungen deuten darauf hin, dass heterotrophe Bakterien, wie Cyanobakterien, eventuell eine wichtige Quelle für B₁₂ für eukaryotische Algen sind. Eine schematische Darstellung ist Abb. 9 zu entnehmen.

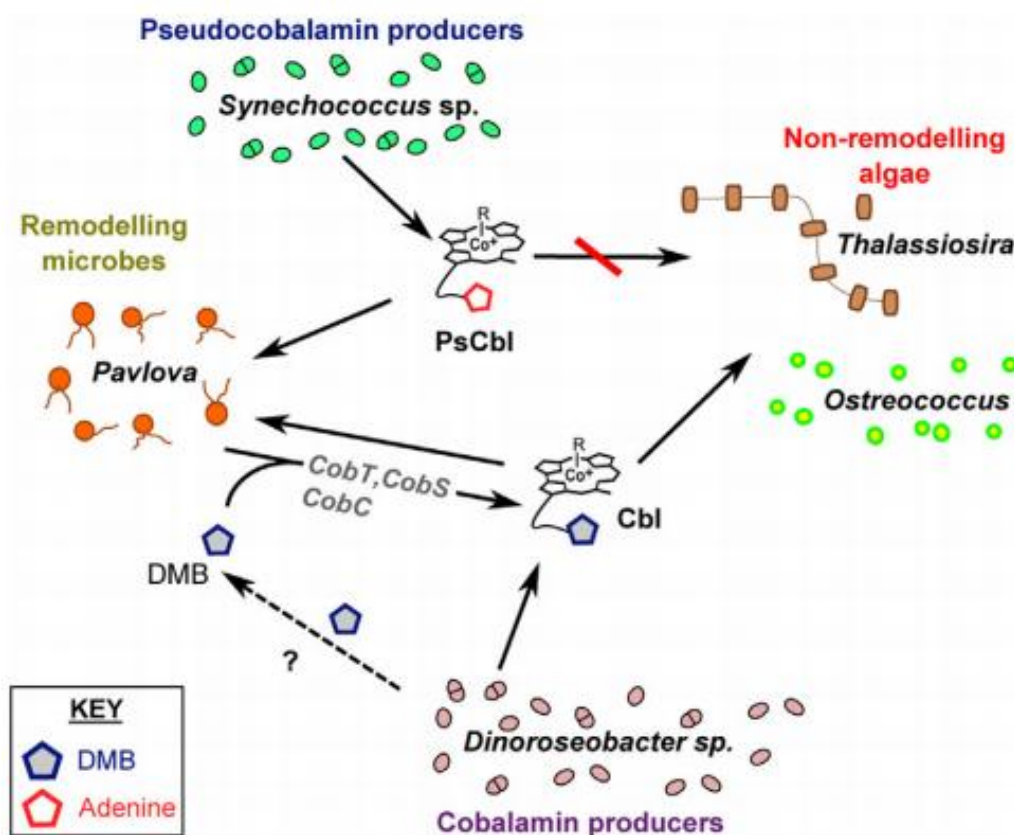


Abb. 9: Vitamin-B₁₂-Zyklus im Meer und Süßwasser (Helliwell et al., 2016)

Cyanobakterien sind zwar keine Pflanzen, zählen aber zu einer veganen Ernährung dazu. Zu ihnen gehören beispielsweise *Spirulina*, *Aphanizomenon* und *Nostoc*. Sie besitzen auch B₁₂-Verbindungen, jedoch handelt es sich dabei meistens um B₁₂-Analoga (Nakos et al., 2017). Dies schlussfolgerte auch Helliwell (2016) bei ihren Untersuchungen, da die überwiegende Mehrheit der Cyanobakterien kein DMB produzieren kann. Allerdings können einige B₁₂-produzierende Bakterien B₁₂-Formen mit einer alternativen Base modifizieren. So kann es z. B. *Salmonella enterica* „importieren“, die DMB nicht selbst herstellen kann, und dadurch Cobalamin anstelle

von Pseudocobalamin erzeugen. Helliwell untersuchte diese Art der "Geführten Biosynthese" bei den Cyanobakterien *Synechococcus*. In Anwesenheit von Pseudocobalamin wurden die Stämme mit DMB versetzt. Es konnte im Anschluss allerdings nur Pseudocobalamin nachgewiesen werden. Daraus schlussfolgerte sie, dass *Synechococcus* die Adeninbase nicht durch DMB ersetzen kann, um Cobalamin herzustellen bzw. dass der Gehalt unterhalb der Nachweisgrenze lag (Helliwell et al., 2016). Aber auch Rizzo et al. (2016) schreiben, dass die anwesenden Mikroorganismen, welche für die Cobalaminsynthese verantwortlich sind, den Corrinoid-Gehalt bestimmen (Rizzo et al., 2016).

In kommerziell erzeugten Nahrungsergänzungsmitteln konnten mittels mikrobiologischer Analyse, auf Basis von *Spirulina*, *Aphanizomenon* und *Nostoc*, große Mengen an Pseudovitamin-B₁₂ nachgewiesen werden (Watanabe, 2014; Katsura 1999; Croft, 2005). Demnach sind sie als B₁₂-Quelle für Veganer ungeeignet.

Tab. 8: Vitamin-B₁₂-Gehalt von Cyanobakterien

Produkt	µg / 100 g	Nachweismethode	Quelle
Spirulina, Aphanizomenon, Nostoc	signifikante Mengen*	k. A.	Nakos et al., 2017
Nostoc	11*	HPLC	Ross et al., 2016
Spirulina	6,2-17,4*	IF-Chemolumineszenz	Ross et al., 2016
Spirulina-Tabletten	127-244*	MBA	Nakos et al., 2017

* Nachweis von Vitamin-B₁₂-Analoga

k.A = keine Angaben

Tab. 9: Vitamin-B₁₂-Gehalt von Algen

	Produkt	µg / 100 g	Nachweismethode	Quelle
Mikroalgen	Chlorella	200,9-211,6	IF-Chemolumineszenz	Ross et al., 2016
	Klamath	31,1-34,3	IF-Chemolumineszenz	Ross et al., 2016
Makroalgen	Nori	32,3-63,6	MBA	Ross et al., 2016
	Nori	25,1-69,2	IF-Chemolumineszenz	Ross et al., 2016
	Koreanische <i>Porphyra sp.</i>	133,8	k. A.	Watanabe et al., 2014

<i>Porphyra sp.</i>	32,3	k. A.	Watanabe et al., 2014
<i>Enteromorpha sp.</i>	63,6	k. A.	Watanabe et al., 2014
Algenprodukte	51,7*	k. A.	Watanabe et al., 2014
Enteromorpha sp., Porphyra sp., Nori	133*	k. A.	Watanabe et al., 1999

* Nachweis von Vitamin-B₁₂-Analoga

k.A = keine Angaben

5.2.4 Pilze

Pilze gehören zu den Eukaryoten und zählen weder zu den Pflanzen noch zu den Tieren. Trotzdem fehlen sie kaum auf einem veganen Speiseplan. Häufig werden in Europa u. a. der Steinpilz und der Austernpilz verzehrt. Sie enthalten relevante Mengen an B₁₂. Laut einer italienischen Studie weisen einige Arten von Austernpilzen, in Süditalien, Mengen von 0,44 bis 1,93 µg / 100 g auf. Die höchste Konzentration wurde für die Art *Pleurotus nebrodalis* ermittelt, die typisch für die Berggebiete in Zentralsizilien ist (Rizzo et al., 2016).

Auch andere, seltenere, essbare Pilze wie die Herbsttrompete (*Craterellus cornucopioides*) und der goldene Pfifferling (*Cantharellus cibarius*) enthalten im Fruchtkörper z. T. erhebliche Mengen von 1,09 bis 2,65 µg / 100 g Trockengewicht. Dabei ist zu beachten, dass der B₁₂-Gehalt nicht auf sofort verzehrsfähige Pilze beruht, sondern lediglich auf den Trockengehalt bezogen ist. Es müsste demnach eine erhebliche Menge von diesen Arten verzehrt werden, um einen effektiven Beitrag zur B₁₂-Versorgung zu leisten. Außerdem weisen die Pilze einen erheblichen Anteil an B₁₂-Äquivalent auf (0,12-1,49 µg / 100 g Trockengewicht) (Watanabe et al., 2012). Außerdem konnten sehr geringe B₁₂-Mengen in europäischen Pilzen, wie Steinpilzen (*Boletus sp.*), Sonnenschirmpilzen (*Macrolepiota procera*), Austernpilzen (*Pleurotus ostreatus*) und schwarzen Morcheln (*Morchella conica*), von etwa 0,09 µg / 100 g Trockengewicht ermittelt werden. Einen besonders hohen B₁₂-Gehalt können Shiitake Pilze (*Lentinula edodes*) aufweisen. Kommerzielle, getrocknete Shiitake Donko Pilze haben B₁₂-Mengen von durchschnittlich 5,61 µg / 100 g Trockengewicht (Watanabe et al., 2014). Eine Auflistung verschiedener Shiitake Pilze mit ihrem B₁₂-Gehalt ist der Tab. 10 zu entnehmen. Die unterschiedlichen Unterarten weisen nicht nur untereinander hohe Schwankungsbereiche auf, sondern auch innerhalb einer Art. Dies könnte der verschiedenen Anbauggebiete geschuldet sein. Die Scheinkastanie, an der der Shiitake

Pilz wächst, ist vom subtropischen bis zum tropischen Asien angesiedelt (Krämer, Grimm, 2002).

Tab. 10: Vitamin-B₁₂-Gehalt verschiedener Shiitake Pilze (Bito et al., 2014)

	Vitamin B ₁₂ content (µg/100 g dry weight)		
	Apparent B ₁₂	Alkali-resistant factor	Corrected B ₁₂
Cultivated on bed log			
Dried Donko-type fruiting bodies			
a	34.27	21.56	12.71
b	14.93	11.34	3.59
c	17.82	13.55	4.27
d	12.71	11.01	1.70
e	23.50	19.28	4.22
f	18.84	11.67	7.17
Mean ± SD	20.35 ± 7.75	14.74 ± 4.55	5.61 ± 3.90 ^a
Dried Koushin-type fruiting bodies			
a	17.73	12.28	5.45
b	14.28	6.55	7.73
c	15.96	14.26	1.70
d	20.98	18.47	2.51
e	13.79	10.05	3.74
Mean ± SD	16.55 ± 2.92	12.32 ± 4.47	4.23 ± 2.42 ^b
Cultivated on sawdust substrate			
Raw fruiting bodies			
a	13.48	9.54	3.94
b	8.24	4.43	3.81
c	11.35	10.07	1.28
d	17.73	8.28	9.45
e	13.46	12.18	1.28
Mean ± SD	12.85 ± 3.47	8.90 ± 2.87	3.95 ± 3.34 ^b
*Identical letter (g) indicates values that are not significantly different.			

Um den Tagesbedarf zu decken, müssten etwas mehr als 70 g der getrockneten Pilze konsumiert werden. Diese Menge ist für den täglichen Verzehr eher ungeeignet. Zu dem stellt die hohe Variabilität keine zuverlässige Quelle dar (Rizzo et al., 2016). Watanabe et al. (2014) hat eine geringe Menge einer inaktiven Corrinoid-Verbindung, Vitamin B₁₂ [C-Lacton], in Shiitake Pilze identifizieren können. Auch die Fruchtkörper von Löwenmähenpilz (*Hericium erinaceus*) enthalten erhebliche Mengen an Vitamin B₁₂ [C-Lacton]. Vitamin B₁₂ [C-Lacton] bindet sich nur schwach an den IF und wirkt somit hemmend auf die Methylmalonyl-CoA-Mutase und die Methioninsynthase (Watanabe et al., 2014)

Tab. 11: Vitamin-B₁₂-Gehalt von Pilzen

Produkt	µg / 100 g	Nachweismethode	Quelle
Shiitake-Pilzen	5,61	k. A.	Watanabe et al., 2014
Essbare Pilze	1,09-2,65	k. A.	Nakos et al., 2017
Totentrompete (<i>Craterellus cornucopioides</i>), goldener Pfifferling (<i>Cantharellus cibarius</i>)	1,09-2,65	MBA	Watanabe et al., 2012
Shiitake-Pilze	3,95-5,61	LC/ESI-MS/MS	Rizzo et al., 2016
Steinpilz(<i>Boletus spp.</i>), Parasolpilz (<i>Macrolepiota procera</i>), Austernpilz (<i>Pleurotus ostreatus</i>), Schwarze Morcheln (<i>Morchella conica</i>)	0,01-0,09	MBA	Watanabe et al., 2012

k.A = keine Angaben

6 Diskussion

6.1 Interessenvertreter

Veganer haben ein erhöhtes Risiko von einem B₁₂-Mangel betroffen zu sein. Daher ist es notwendig zu prüfen inwiefern Pflanzen eine adäquate Vitamin-B₁₂-Quelle sind (Watanabe et al., 2013). Im Folgenden sollen die Resultate dieser Arbeit mit den Aussagen der DGE und der VEBU verglichen werden. Die DGE fungiert dabei als objektive, unabhängige und wissenschaftliche Gesellschaft. Sie ist dem Gemeinwohl verpflichtet und gibt Empfehlungen sowie Leitlinien rund um das Thema Ernährung. Sie fördert die Vollwerternährung, welche den moderaten Konsum von tierischen Produkten enthält. Die VEBU ist dagegen die „größte Interessenvertretung vegetarisch und vegan lebender Menschen in Deutschland und steht für eine pflanzenbetonte Lebensweise“ (<https://vebu.de/> 19.03.2018).

6.1.1 Höhere Pflanzen

Die einzige Pflanze, in der auf natürliche Weise relevante Mengen an B₁₂ nachgewiesen werden konnte, ist der Sanddorn bzw. Sanddornbeeren. Weder die DGE noch der VEBU hat Stellung zu diesem Produkt bezogen. Ausschließlich die Symbiose mit den Bakterien *Frankia alni* ist dafür verantwortlich. Daher ist der B₁₂-Gehalt stark von ihnen abhängig. Die Werte reichen von nicht nachweisbar bis zu Mengen bei denen 100 g des Produkts den Tagesbedarf bereits decken würden. Allerdings werden die Beeren meistens nicht direkt verzehrt, sondern der aus ihnen gewonnene Saft. Theoretisch könnte den Tagesbedarf bereits ein Glas wilder Sanddornbeerensaft pro Tag decken. Jedoch sind die Angaben zu unbeständig. Wenn Sanddornbeerensaft als B₁₂-Quelle genutzt werden soll, muss der B₁₂-Gehalt vorab überprüft werden. Diese Überprüfung sollte in regelmäßigen Abständen wiederholt werden.

6.1.2 Algen und Cyanobakterien

Die DGE schreibt, dass Meeresalgen, wie z. B. Nori, B₁₂ enthalten, sie jedoch durch ihre ungewisse Bioverfügbarkeit nicht als alleinige B₁₂-Quelle geeignet sind. Sie bezieht sich dabei u. a. auf verschiedene Veröffentlichungen von Watanabe und seinem Forschungsteam.

Watanabe et al. (1999) schreiben: „getrocknete Rotalgen (Nori) sind die beste Quelle für Vitamin B₁₂ unter essbaren Meeresalgen, vor allem für strenge Vegetarier“. Diese Aussage steht im direkten Widerspruch zur Haltung der DGE. Watanabe et al. (2007) bekräftigen in dieser Veröffentlichung seine Meinung, dass getrocknete Grün- und Rotalgen (Nori) erhebliche Mengen an Vitamin B₁₂ aufweisen. Sie weisen außerdem darauf hin, dass andere Algenarten keine oder nur

Spuren von Vitamin B₁₂ enthalten. Thomas Campbell (2015) schreibt, dass ausschließlich Grünalgen (*Enteromorpha sp.*) und die Rotalgen (*Porphyra sp.*) aktives Vitamin B₁₂ enthalten. Nur die als fälschlicherweise als Blaualgen bezeichneten Cyanobakterien enthalten Pseudovitamin B₁₂ (Watanabe et al., 2007). Zur Bioverfügbarkeit von Algen erwähnt Watanabe eine Ernährungsanalyse von sechs vegan lebenden Kindern. Sie ernährten sich für vier bis zehn Jahre hauptsächlich von braunem Reis und Nori. Sie bildeten keinen B₁₂-Mangel aus. Dies ist ein Indiz dafür, dass Algen durchaus relevante Mengen von aktiven B₁₂ enthalten können. Auch ein Versuch an Ratten legt nahe, dass das in den Algen enthaltene B₁₂ für den Säugetierorganismus in bioverfügbarer Form vorliegen (Watanabe et al., 2013). Der VEBU bemängelt, dass zur Bioverfügbarkeit von Algen noch keine Ernährungsstudie an Menschen vorliegt. Die von Watanabe et al. (2013) erwähnte Studie an den Kindern ist aufgrund der geringen Teilnehmerzahl und der ungenauen Beschreibung der Rahmenbedingung nicht sehr aussagekräftig.

Ferner warnt die DGE vor dem z. T. zu hohem Jodgehalt. Auch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) sieht den hohen Jodgehalt als sehr kritisch an. Der UL (Tolerable Upper Intake Level) liegt bei 0,5 mg / Tag. Allerdings weisen Algen zwischen 5 und 11.000 mg Jod / kg Trockengewicht auf. Der Jodgehalt einzelner Arten schwankt dabei deutlich (BfR, 2004). Watanabe et al. (1999) ermittelt einen Jodgehalt von 4 – 6 mg / 100 g Trockengewicht bei Grünalgen (*Enteromorpha sp.*) und Rotalgen (*Porphyra sp.*). In einer Beispielrechnung ging die BfR von einer Verzehrmenge von 10 g pro Tag aus. Kombiniert mit den Ergebnissen von Watanabe würde der UL nur leicht überschritten werden. Eine Gefahr der Jodübersorgung ist daher eher unwahrscheinlich. Da der Jodgehalt laut der BfR sehr stark schwankt, sollten nur Algen-Produkte verzehrt werden, bei denen der Jodgehalt ausgewiesen ist und unter dem UL liegt (BfR, 2004).

Der Konsum von insbesondere Rotalgenprodukte wie Nori, unter der Berücksichtigung des Jodgehalts, kann eine sinnvolle B₁₂-Ergänzung darstellen.

Weiterhin schreibt die DGE, dass Vertreter der Cyanobakterien, wie *Spirulina*, inaktives B₁₂ enthalten. Dies könnte einen B₁₂-Mangel noch verstärken. Zu einem ähnlichen Entschluss kommt auch der VEBU. Er bemängelt, dass keine Ernährungsstudie an Menschen vorliegt. Des Weiteren erwähnt er, dass zum Großteil inaktives B₁₂ in Nahrungsergänzungsmitteln auf Algenbasis enthalten ist. Auch wenn Cyanobakterien wie *Spirulina* sehr hohe Mengen von 127,2–244,3 µg / 100 g Trockengewicht B₁₂ aufweisen, sind sie für den Menschen nicht verwertbar (Ross et al., 2016). Auch andere Vertreter wie *Nostoc* oder *Aphanizomenon* weisen signifikante

Mengen an B₁₂-Analoga auf. Dies geht auch aus den Veröffentlichungen von Watanabe et al. (2014) und Nakos et al. (2017) hervor. Die Untersuchungen von Helliwell et al. (2016) lassen vermuten, dass das von einigen Cyanobakterien produzierte Pseudovitamin B₁₂ von einigen Mikroalgen zu aktivem B₁₂ umgewandelt werden kann. Vorausgesetzt wird die Anwesenheit von DMB. Sie konnte ihre Vermutung allerdings noch nicht eindeutig belegen. Dieser Aspekt könnte für die Zukunft der Algenzucht jedoch interessant sein.

6.1.3 Fermentierte Lebensmittel

Die DGE, der VEBU sowie auch Thomas Campbell sind sich einig, dass fermentierte Lebensmittel einen zu geringen Gehalt an B₁₂ aufweisen, als dass der Verzehr einen effektiven Beitrag zur Deckung des Tagesbedarfs leisten könnte. Zudem zweifelt die DGE die Bioverfügbarkeit solcher Produkte an.

Nakos (2017) schreibt in einer seiner Veröffentlichungen, dass Tempeh einen B₁₂-Gehalt von 0,7 bis 8 µg /100 g Produkt enthält. Diese Aussage widerspricht sich mit den Aussagen der DGE, VEBU und Campbell. Es ist fraglich, ob die gemessene Menge tatsächlich dem Fermentationsprozess der verwendeten Kulturen zugrunde liegt. Es müsste geklärt werden, ob es sich eventuell um Fremdkontamination handeln könnte, so wie es Liem et al. (1977) bereits beschrieben haben. Durch die große Spannweite der B₁₂-Angabe stellt Tempeh keine verlässliche B₁₂-Quelle dar. Ferner fehlen auch Aussagen über die Bioverfügbarkeit. Auch Herbert (1988) schreibt, dass keine relevanten Mengen an B₁₂ im Tempeh enthalten sind. Andere fermentierte Lebensmittel weisen laut Watanabe (2014) nur sehr geringe Mengen an B₁₂ auf. Wie z. B. der japanische Schwarztee, dessen Bioverfügbarkeit zwar an Ratten bestätigt wurde, aber dennoch nur sehr wenig B₁₂ enthält. Außerdem sind die Messergebnisse von Sauerkraut zu inhomogen, als dass es sich als adäquate Vitamin-B₁₂-Quelle eignen würde. Über die Bioverfügbarkeit kann keine allgemeingültige Aussage getroffen werden, da der Ursprung der z. T. erheblichen B₁₂-Mengen unklar ist.

6.1.4 Pilze

Ähnlich sieht es im Bereich der essbaren Pilze aus. Die DGE wertet den B₁₂-Gehalt von Shiitake Pilzen als zu stark schwankend, um als zuverlässige Quelle in Frage zu kommen. Der VEBU nimmt diesbezüglich keine Stellung in seiner Veröffentlichung „Vitamin B₁₂ in veganen Lebensmitteln“. Die DGE stützt Ihre Aussage auf eine Arbeit von Watanabe (2014). Der höchste Durchschnittswert einer Shiitakeart liegt, laut Watanabe, bei 5,61 µg / 100 g Trockengewicht.

Das würde bedeuten, dass durchschnittlich 70 g getrocknete Shiitake Pilze verzehrt werden müssten um den Tagesbedarf an B₁₂ zu decken. Weiterhin schreibt Watanabe in seiner Veröffentlichung, dass er in Shiitake Pilzen Vitamin B₁₂[c-lactone] gefunden hat. B₁₂ [c-Lacton] kann den B₁₂-Stoffwechsel von Säugetieren blockieren. Somit ist die Bioverfügbarkeit von Shiitake Pilzen fraglich. Watanabe et al., (2013) testen die Bioverfügbarkeit von der Totentrompete und dem goldenen Pfefferling. Sie kommt zu dem Entschluss, dass 100 g von diesen Pilzen, in getrockneter Form, ausreichen um den RDA zudecken. Diese Menge sei theoretisch möglich, ist aber dennoch nicht praktikabel. Andere Pilzarten enthalten wesentlich geringere B₁₂-Mengen von 0,44 bis 2,65 µg / 100 g Trockengewicht (Nakos et al., 2017). Selbst wenn es sich um 100 % aktives B₁₂ handeln würde, könnten sie nur einen geringen Beitrag zur Deckung des Tagesbedarfs an B₁₂ leisten. Dennoch könnte der regelmäßige Konsum von der Totentrompete und der des goldenen Pfefferlings die Vitamin-B₁₂-Versorgung unterstützen.

6.2 Weiterführende Forschung

In dieser Arbeit wurden bereits nicht-tierische Lebensmittel genannt, die fähig sind einen relevanten Beitrag zu Vitamin-B₁₂-Versorgung zu leisten. So können unter bestimmten Voraussetzungen Sanddorn, Nori, Totentrompete und der goldene Pfefferling relevante Mengen an B₁₂ enthalten. Jedoch müssten z. T. große Mengen von einzelnen Produkten konsumiert werden. Außerdem ist die Lebensmittelauswahl stark eingeschränkt. Daher bedarf es weiterer Forschung um neue B₁₂-Quellen zu erschließen. Auch die gezielte Steuerung des Cobalamingehalts in Pflanzen sollte fokussiert werden. In den nachfolgenden Unterpunkten werden Ansätze und Theorien beschrieben, um die Vielfalt und den B₁₂-Gehalt eventuell zu erhöhen.

6.2.1 Symbiose

Pflanzen die eine Symbiose mit Aktinobakterien der Art *Frankia alni* eingehen, werden als Aktinorrhiza bezeichnet (Wall, 2000). Durch diese Symbiose kann die Pflanze Vitamin-B₁₂ enthalten. In dieser Arbeit wurde bereits über das Cobalamin-Aufkommen von Sanddorn berichtet. Doch die Familie der Aktinorrhiza beinhaltet noch weitere Vertreter, die potentielle Nahrungsquellen für den Menschen darstellen. Die Pflanzen, welche essbare Früchte aufweisen sind in der nachstehenden Abb. 10 gekennzeichnet. Beispielsweise haben Pappelpflaume (*Myrica rubra*), Farnmyrte (*Comptonia peregrina*), Gerbersträucher (*Coriaria*) oder Vertreter der Ölweidengewächse wie die Ölweiden (*Elaeagnus*) und die Büffelbeeren (*Shepherdia*) genießbare Früchte.

Untersuchungen des B₁₂-Gehalts dieser Früchte könnten einen enormen Beitrag zur Steigerung der Vielfalt von pflanzlichen Cobalamin-Quellen beitragen.

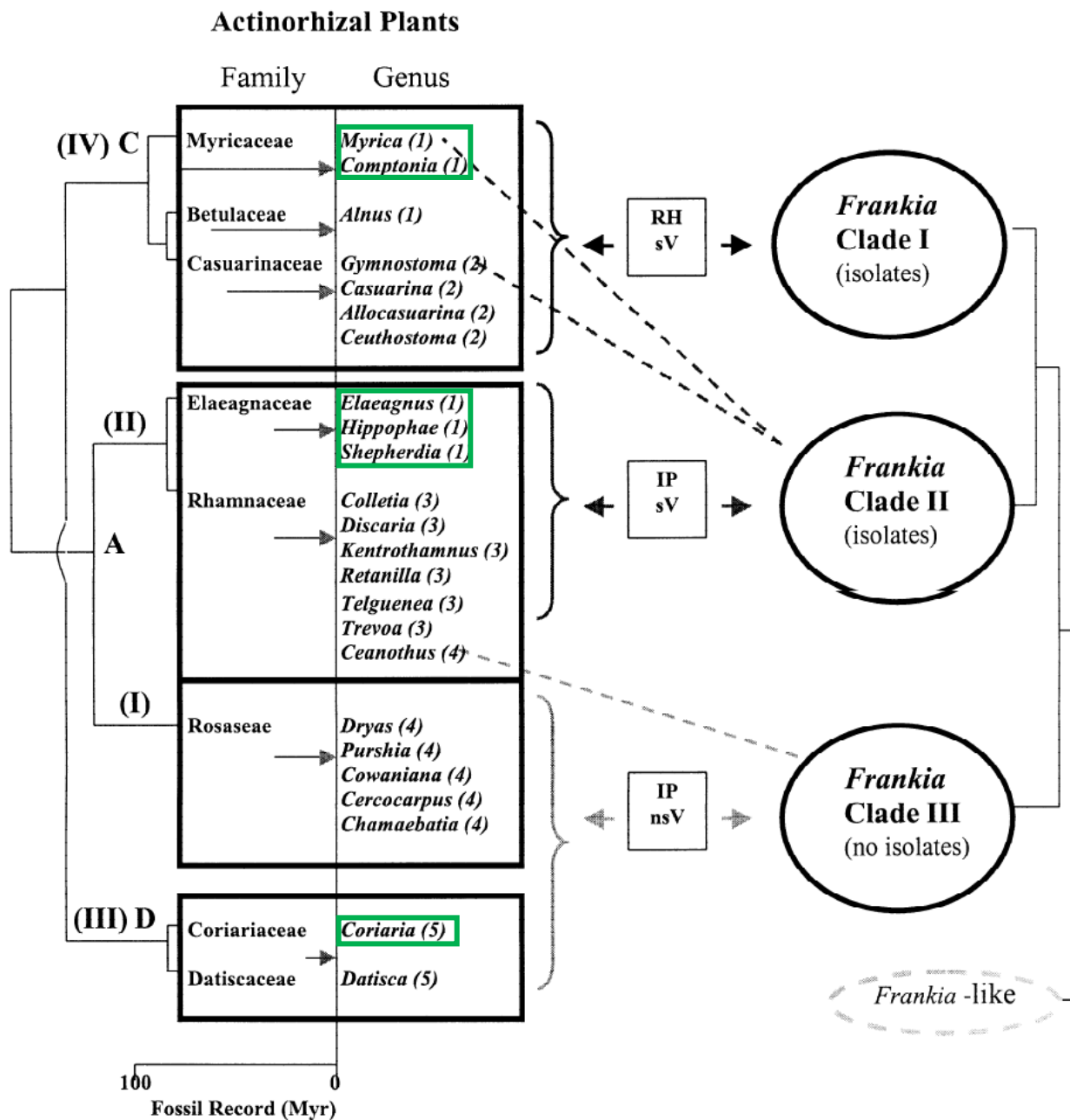


Abb. 10: Aktinorrhiza (Wall, 2000)

Auch die Aufklärung von Wachstumsbedingungen der *Frankia alni* könnte zur gezielten Verbreitung der Gattung beitragen. Kysil (2014) schrieb, dass die Bakterienanzahl, sowie das Alter der Pflanzen den Cobalamingehalt beeinflussen. Weiterhin gilt zu prüfen, ob auch biologische Dünger das Wachstum der Bakterien hemmen bzw. sie gänzlich abtöteten. Der Einfluss von Vi-

tamin C auf den B₁₂-Gehalt von Sanddornbeeren wurde bereits im Kapitel 4.4 beschrieben. Da Sanddorn von Natur aus bereits reich an Vitamin C und sehr lichtempfindlich ist, wäre es interessant die Vitamin-B₁₂-Menge in Abhängigkeit der Lagerdauer zu untersuchen, beispielsweise anhand von Sanddornbeerensaft.

6.2.2 Fermentation

Fermentierte Lebensmittel enthielten bei einigen Untersuchungen relevante Mengen an Vitamin B₁₂. Diese Werte könnten durch Fremdkontamination zu erklären sein. Demnach wäre es theoretisch möglich, dass einem Fermentationsprozess B₁₂-Bildner zugesetzt werden. Beispielsweise könnte die Zugabe von *B. megaterium* denkbar sein, da diese Bakterien auch für die industrielle Herstellung von Cobalamin benutzt werden.

Kysil (2014) zeigte bereits unter der Verwendung von *B. megaterium* und *Spirulina platensis*, dass eine signifikante Erhöhung des B₁₂-Gehalts in Pflanzen während des Fermentationsprozesses möglich ist. Sie kam zu dem Entschluss, dass das Pseudovitamin B₁₂ der *Spirulina* von den Bakterien zu aktivem B₁₂ umgewandelt wurde und dass die Anwesenheit von *Spirulina* das Wachstums von *B. megaterium* steigern kann. In der nachstehenden Tabelle sind einige Analyseergebnisse von Kysil zusammengefasst. Der Cyanocobalamin-Gehalt wurde mittels RP-HPLC festgestellt.

Tab. 12. Vitamin B₁₂-Gehalt von fermentiertem Weißkohl (Kysil, 2014)

Probe	µg / 100 g
Weißkohl (<i>B. megaterium</i>)	0,86
Weißkohl (malolaktisch)	0,84
Weißkohl mit 10 % <i>Spirulina</i> (<i>B. megaterium</i>)	3,81
Weißkohl mit 10 % <i>Spirulina</i> (malolaktisch)	1,244

Weitere Untersuchungen zur Steigerung des Vitamin-B₁₂-Gehaltes sind nötig. Die in Tab. 12 aufgeführten Werte sind noch zu gering, als dass sich durch ihren Konsum tatsächlich der Tagesbedarf an B₁₂ decken ließe. Da *B. megaterium* nicht zu den probiotischen Mikroorganismen gehört, ist eine geeignete Sterilisationsmethodik zu entwickeln, die dabei den B₁₂-Gehalt nur geringfügig beeinflusst. Auch eine sensorische Beurteilung ist sinnvoll.

Ferner gilt zu klären, ob sich der Versuch von Kysil auch analog auf andere Pflanzen übertragen lässt.

6.2.3 Vitamin-B₁₂-Anreicherung in Pflanzen

Mozafar et al. (1994) konnte in seinem Experiment verdeutlichen, dass Pflanzenwurzeln in der Lage sind Vitamin-B₁₂ aus dem Boden aufzunehmen. Die Cobalamin-Anreicherung erfolgte durch Kuhdung. Watanabe et al. (2014) schreiben, dass besonders organischer Dünger auf Basis von Tierfezes häufig inaktive Corrinoid-Verbindungen enthalten. Allerdings konnte Mozafar durch die Radioisotopenverdünnung aktive B₁₂-Verbindungen nachweisen. Bito et al. (2013) untersuchte eine ähnliche Variante. Er reicherte erfolgreich Pflanzen auf Basis von Hydrokulturen mit B₁₂ an.

Die B₁₂-Anreicherung war nicht bei allen getesteten Pflanzen erfolgreich. Es müsste geklärt werden, von welchen Faktoren die B₁₂-Absorption abhängig ist. Zu diesem Zweck könnten die Wurzeln der Pflanzen verglichen werden, bei denen eine Anreicherung bereits positiv war. Weiterführend wäre eine systematische Erfassung von Pflanzen hilfreich, die in der Lage sind, B₁₂ zu absorbieren. Auch eine Analyse in welchen Teilen der Pflanze besonders hohe Vorkommen an Cobalamin zu finden sind, ist relevant.

Diese Versuche könnten auch für einige Pilzarten interessant sein. Die Recherche konnte zeigen, dass einige Pilze in Lage sind B₁₂ zu absorbieren. Der Champignon ist zusammen mit dem Shiitake Pilz einer der am häufigsten konsumierten Pilzen weltweit (Krämer, Grimm, 2002). Ob auch der Champignon über die Fähigkeit der B₁₂-Absorption verfügt, müsste in Versuchen, ähnlich wie die von Bito und Mozafar, überprüft werde. Durch seine enorme Verbreitung hätte er das Potenzial eine flächendeckende B₁₂-Quelle zu sein. Natürlich muss im Vorhinein die Bioverfügbarkeit überprüft werden.

7 Zusammenfassung

Nicht-tierische Lebensmittel, die als Vitamin-B₁₂-Quelle dienen können, sollten in bioverfügbarer Form vorhanden sein. Zudem sollten mögliche Begleitsubstanzen keine negativen Auswirkungen auf den Konsumenten haben, wie es beispielsweise beim Jodgehalt von Algen der Fall sein kann.

Jedoch sind hauptsächlich tierische Produkte reich an Vitamin B₁₂. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Aussagen wie „There is no active vitamin B₁₂ in anything that grows out of the ground“ (Herbert, 1988) veraltet sind und es durchaus pflanzliche Vitamin-B₁₂-Quellen gibt. Allerdings nur unter bestimmten Voraussetzungen. So können beispielsweise die Früchte der Aktinorrhiza Cobalamin enthalten. Sie gehen eine Symbiose mit den B₁₂-bildenden Bakterien *Frankia alni* ein. Allerdings hat sich auch gezeigt, dass diese Symbiose nicht immer besteht. Ein wichtiges Kriterium für eine erfolgreiche Ansiedlung von *Frankia alni* ist die Beschaffenheit des Bodens. Daher sind u. a. die B₁₂-Werte stark schwankend. Auch das Alter der Pflanze und die Anzahl der Bakterien spielen eine Rolle. So konnten beispielsweise Spitzenwerte von 4,6 und 5,4 µg / 100 g Probe ermittelt werden aber es konnte teilweise auch gar kein B₁₂ nachgewiesen werden. Sanddornproduzenten können das Wachstum von *Frankia alni* unterstützen. Als erfolgreich zeigte sich die Anreicherung des Bodens mit Kobalt- und DMB-haltigen Substrat. Jedoch sind die Anforderungen zu artspezifisch um allgemeingültige Aussagen über diese zu treffen. Auch eine lichtarme Lagerung bzw. Verpackung kann das Produkt vor dem B₁₂-Abbau schützen.

Eine andere Möglichkeit, wie nicht-tierische Lebensmittel an B₁₂ kommen, konnte anhand von Pilzen gezeigt werden. Einige Arten sind in der Lage Vitamin B₁₂ aus dem Boden zu absorbieren. Es wurden relevante Mengen von 1,1 bis zu 2,7 µg / 100 g Trockengewicht bei der Totentrompete und dem goldenen Pfifferling identifiziert. Jedoch können sie die B₁₂-Versorgung nur unterstützen. Fermentierte Lebensmittel weisen zu geringe Mengen an B₁₂ auf, somit scheiden sie als adäquate B₁₂-Quelle aus. Versuche von mit Vitamin B₁₂ angereicherten Pflanzen, auch von fermentierten Lebensmitteln, sehen dagegen sehr vielversprechend aus. Es ist jedoch fraglich, ob dies mit den Idealen einer veganen Ernährung zu vereinbaren ist.

Veganer, die sich möglichst ohne Nährstoffpräparate ernähren möchten, sollten regelmäßig ihren B₁₂-Status von einem Arzt prüfen lassen. Ein mäßiger Konsum von Algen und Pilzen kann die natürliche Cobalaminversorgung unterstützen. Die analysierten B₁₂-Gehalte variieren zu stark, als dass sie als einzige Quelle sicher wären. Besonders bei den Algen ist auf den Jodgehalt zu

achten. Aber auch wilde Pilze sollten nur aus Wäldern mit einer niedrigen Schadstoffbelastung gepflückt werden. Kultivierte Champignons enthalten dagegen kein Cobalamin. Wenn die Möglichkeit besteht ist die Aufnahme von täglich einem Glas wilden Sanddornsaft wünschenswert. Dies ist jedoch nur sinnvoll wenn Informationen über den B₁₂-Gehalt vorliegen. Eventuell ist auch der Konsum von Lebensmitteln, die mit B₁₂ versetzt wurden, wie z. B. „Milch“ auf Pflanzenbasis, denkbar. Sollte dennoch ein B₁₂-Mangel auftreten ist die Aufnahme von Nährstoffpräparaten dringend anzuraten. Denn ohne eine bewusste Maßnahme zu ergreifen wird sich der B₁₂-Status nicht erholen. Die Folgen sind z. T. irreversibel. In Zusammenarbeit mit dem Hausarzt kann eine geeignete Therapie erstellt werden. Auch der VEBU empfiehlt Vitamin B₁₂ zu supplementieren.

Nach derzeitigem Stand der Forschung ist die vegane Lebensmittelauswahl noch zu gering, um eine abwechslungsreiche und B₁₂-abdeckende Ernährung umzusetzen. Eine einseitige Ernährung setzt nicht nur die Lebensqualität herab, sie führt auch zum Mangel von anderen essentiellen Nährstoffen. Großes Forschungspotential besteht in der Vitamin-B₁₂-Anreicherung von Pflanzen. Es wurden bereits einige Pflanzen identifiziert, die in der Lage sind Cobalamin mit ihren Wurzeln zu absorbieren. Weiterführende Untersuchungen könnten somit die Produktpalette erhöhen und ein gezieltes steuern des Vitamin-B₁₂-Gehalts ermöglichen.

8 Literaturverzeichnis

Albert, M.J.; Mathan, V.L.; Baker, S.J.: Vitamin B₁₂ synthesis by human small intestinal bacteria. *Nature* 283 (1980), S. 781-782

alles-vegetarisch (Hrsg.): VBites MAKING WAVES Fish-Style Fingers, 215g.

<https://www.alles-vegetarisch.de/lebensmittel/fischalternativen/vbites-making-waves-fish-style-fingers-215g>. 07.03.2018

Alpro (Hrsg.): Haferdrink Original.

https://www.alpro.com/de/produkte/drinks/haferdrinks?gclid=Cj0KCQiAuP7UBRDIArIsAFpxiRK6fPsOSXyahKWxELSu1INISdikqtXDKqHT0QnWZOTXTHv2ppjIfIQaAkVEEALw_wcB. 07.03.2018

AOAC Official Method 952.20. Cobalamin (Vitamin B₁₂ Activity) in Vitamin Preparations Microbiological Methods First Action 1952.

Baltes W.; Matissek R.: *Lebensmittelchemie*. 7. Auflage. Springer: Heidelberg, 2011

bedda (Hrsg.): bedda scheiben classic. <http://bedda-world.com/produkte/>. 07.03.2018

Bélanger P.-A.; Bissonnette, C.; Bernèche-D'Amours, A.; Bellenger, J.-P.; Roy, S.: Beurteilung der Anpassungsfähigkeit der actinorhizalen Symbiose angesichts von Umweltveränderungen. *Environmental and Experimental Botany* 74 (2011), S. 98-105

BfR (Hrsg.): Gesundheitliche Risiken durch zu hohen Jodgehalt in getrockneten Algen. 12.07.2007.

www.bfr.bund.de/cm/343/gesundheitliche_risiken_durch_zu_hohen_jodgehalt_in_getrockneten_algen.pdf. 22.07.2004. 19.03.2018

Bitto, T.; Ohishi, N.; Hatanaka, Y.; Takenaka, S.; Nishihara, E.; Yabuta, Y.; Watanabe, R.: Production and Characterization of Cyanocobalamin-Enriched Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Grown Using Hydroponics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (2013), Nr. 61, S. 3852-3858

Bito, T.; Teng, F.; Ohishi, N.; Takenaka, S.; Miyamoto, E.; Skuno, E.; Terashima, K.; Yabuta, Y.; Watanabe, F.: Characterization of vitamin B₁₂ compounds in the fruiting bodies of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) and bed logs after fruiting of the mushroom. *Mycoscience* 55 (2014), Nr. 6, S. 462-468

Boody, K.; King, P.; Mervyn, L.; Macleod, A.; Adams, J.F.: Retention of cyanocobalamin, hydroxocobalamin and coenzyme B₁₂ after parenteral administration. *The Lancet* 292 (1968), Nr. 7570, S. 710-712

boutiquevegan (Hrsg): MyEy VollEy. <https://www.boutique-vegan.com/de/lebensmittel/ei-ersatz/myey-volley?c=86>. 07.03.2018

Braune, W.: Meeresalgen. Ein Farbbildführer zu den verbreiteten benthischen Grün- Braun- und Rotalgen der Weltmeere. Ruggell: Gantner, 2008

Burgess, C.M.; Smid, E.L.; van Sinderen, D.: Bacterial vitamin B₂, B₁₁ and B₁₂ overproduction: An overview. *International Journal of Food Microbiology* 133 (2009), Nr. 1-2, S. 1-7

Degnan, P.H.; Taga, M.E.; Goodman, A.L.: Vitamin B₁₂ as a Modulator of Gut Microbial Ecology. *Cell Metabolism* 20 (2014), Nr. 5, S. 769-778

Campbell, T.C.: 12 Questions Answered Regarding Vitamin B₁₂. 06.02.2015. <https://nutritionstudies.org/12-questions-answered-regarding-vitamin-b12/> 10.03.2018

Campbell, T.C.; Campbell, T.M.: China study: die wissenschaftliche Begründung für eine vegane Ernährungsweise. 2. Auflage. Systemische Medizin: Bad Kötzing, 2012

Cooper, M.B.; Smith, A.G.: Exploring mutualistic interactions between microalgae and bacteria in the omics age. *Current Opinion in Plant Biology* 26 (2015), S. 147-153

Croft, M.T.; Lawrence, A.D.; Raux-Deery, E.; Warren, M.J.; Smith, A.G.: Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature* 438 (2005), S. 90-93

DGE (Hrsg.): Vegane Ernährung. Position der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V. (DGE). Ernährungsumschau International (2016), Nr.4, S. 92-102

DGE (Hrsg.): Bei Sommerhitze verderben Lebensmittel schneller. DGE gibt Tipps zum Schutz vor Lebensmittelinfektionen. DGE aktuell (2015), Nr. 8, S. 1-3

Destatis (Hrsg.): Alter der Mutter.

<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Bevoelkerung/Geburten/Tabellen/GeburtenMutterAlterBundeslaender.html>. 20.03.2018

DTC (Hrsg.): Nährstofflexikon. 1999. www.deutscher-nahrung.de/open/brand_id/8/action/glossary%3Blist/menu/8/letter/V/M/TjxMOQ. 12.03.2018

D.A.CH.-Liga Homocystein (Hrsg.): Vitamin-B₁₂-Mangel: Symptome von Vitamin-B₁₂-Mangel. <http://www.dach-liga-homocystein.org/content/vitamin-b12-mangel> 19.03.2018

Ford, J.E.: Differentiation of Vitamin B₁₂ active compounds by ionophoresis and microbiological assay; microbiological tests, Nature 1953, 171, 149-150

Gu, Q.; Zhang, C.; Song, D.; Li, P.; Zhu, X.: Enhancing vitamin B₁₂ content in soy-yogurt by *Lactobacillus reuteri*. International Journal of Food Microbiology 206 (2015), S. 56-59

Helliwell, K.E.; Lawrence, A.D.; Holzer, A.; Scanlan, D.J.; Warren, M.J.; Smith, A.G.: Cyanobacteria and Eukaryotic Algae Use Different Chemical Variants of Vitamin B₁₂. Current Biology 26 (2016), Nr. 8, S. 999-1008

Herbert, V.: „Nutritional requirements for vitamin B₁₂ and folic acid“ Am. J. Clin. Nutr. 21:743-752, 1968

Herbert, V.: Vitamin B₁₂: plants sources, requirements, and assay. The American Society for Clinical Nutrition 48 (1988), S. 852-858

Hermann, W.: Homocysteinspiegel: Gefahren durch erhöhtes Homocystein. Ein hoher Homocysteinspiegel erhöht das Risiko diverser Krankheiten. Hyperhomocysteinämie als Ursa-

che von Krankheiten. Homocystein senken mit Vitaminen. Schneisingen.
www.vitaminb12.de/homocystein/homocysteinspiegel-erhoeht-gefahren/; 19.03.2018

ifp (Hrsg.): VitaFast. Vitamin B₁₂ (Cyanocobalamin): Mikrobiologischer Mikrotiterplatten-Test zur quantitativen Bestimmung von Vitamin B₁₂: Berlin, 2017

Kerschke-Risch, P.: Vegan diet: motives, approach and duration. Initial results of a quantitative sociological study. Ernährungs Umschau 62 (2015), S. 98–103

Kittaka-Kasura, H.; Fujita, T.; Watanabe, F.; Nakano, Y.: Purification and characterization of a corrinoid compound from *Chlorella* tablets as an algal health food. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50 (2002), Nr. 17, S. 4994–4997

Kittaka-Kasura, H.; Watanabe, F.; Nakano, Y.: Occurrence of Vitamin B₁₂ in Green, Blue, Red, and Black Tea Leaves. Journal of Nutritional Science and Vitaminology 50 (2004), S. 438–440

Krämer, N.; Grimm, J.: Shiitake und Austernpilze. Anbau im eigenen Garten, vegetarische Gerichte. 1. Auflage. pala-verlag: Darmstadt, 2002

Kumar, S.S.; Chouhan, R.S.; Thakur, M.S.: Trends in analysis of vitamin B₁₂. Analytical Biochemistry 398 (2010), Nr. 2, S. 139–149

Kumudha, A.; Selvakumar, S.; Dilshad, P.; Vaidyanathan, G.; Thakur, M.S.; Sarada, R.: Methylcobalamin – A form of vitamin B₁₂ identified and characterised in *Chlorella vulgaris*. Food Chemistry 170 (2015), Nr. 1, S. 316–320

Kumuhda, A.; Kumar, S.S.; Thakur, M.S.; Ravishankar, G.A.; Sarada, R.: Purification, Identification, and Characterization of Methylcobalamin from *Spirulina platensis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58 (2010), Nr. 18, S. 9925–9930

Kysil, O.A.: Grundlegende Untersuchungen zur mikrobiellen Synthese von Vitamin B₁₂ in symbiotischen pflanzlichen Systemen am Beispiel der *Frankia*. Entwicklung neuartiger pflanzlicher Extrakte mit hohem essentiellen Vitamin B₁₂-Gehalt. Hannover, 2014

LCI (Hrsg.): LC-MS/MS – Was ist das eigentlich?. Süßwaren (2002), Nr. 9, S. 1-2

lebegesund (Hrsg.): Defi pikant – vegane Wurst. [https://www.lebegesund.de/defti-pikant.html?expa=SBGO-](https://www.lebegesund.de/defti-pikant.html?expa=SBGO-NSG.PLA&gclid=Cj0KCQiAuP7UBRDIArIsAFpxiRIeRz_q2C2Y2Ubi6VBevOUrXimWU9ZIR-N0UbvpGcHF3rDAec1WwsIaApr3EALw_wcB)

NSG.PLA&gclid=Cj0KCQiAuP7UBRDIArIsAFpxiRIeRz_q2C2Y2Ubi6VBevOUrXimWU9ZIR-N0UbvpGcHF3rDAec1WwsIaApr3EALw_wcB. 07.03.2018

Leitzmann, C.; Keller, M.: Vegetarische Ernährung. 3 Auflage: Stuttgart, 2013

Liem, I.T.; Steinkraus, K.H.; Cronk, T.C.: Production of vitamin B₁₂ in tempeh, a fermented soybean food. Appl. Environ. Microbiol. 34 (1977); Nr. 6, S. 773 – 776

Linnell, J.C.; Matthew, D.M.; England, J.M.: Therapeutic misuse of cyanocobalamin. The Lancet 312 (1978), Nr. 8098, S. 1053-1504

Martens, J.-H.; Barg, H.; Warren, M.J.; Jahn, D.: Microbial production of vitamin B₁₂. Applied Microbiology and Biotechnology 58 (2002), Nr. 3, S. 275-285

Mo, H.; Kariluoto, S.; Piironen, V.; Zhu, Y.; Sanders, M.G.; Vincken, J.-P.; Wolkers-Rooijackers, J.; Nout, M.J.R.: Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B₁₂ and isoflavones in tofu and tempeh. Food Chemistry 141 (2013), Nr. 3, S. 2418-2425

Molina, V.C.; Médici, M.; Taranto, M.P.; Font de Valdez, G.: *Lactobacillus reuteri* CRL 1098 prevents side effects produced by a nutritional vitamin B₁₂ deficiency. Journal of Applied Microbiology 106 (2009), Nr. 2, S. 467-473

Mozafar, A.; Oertli, J.: Uptake of a microbially-produced vitamin (B₁₂) by soybean roots. Plant and Soil 139 (1992), S. 23 – 30

Mozafar, A.: Enrichment of some B-vitamins in plants with application of organic fertilizers. Plant Soil 167: 1994, S. 305–311.

Nakos, M.; Beutel, S.; Scheper, T.: Determination of Vitamin B₁₂ in Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). 6th International Conference and Exhibition on Analytical & Bioanalytical Techniques. Spain, 2015

Nakos, M.; Pepelanova, I.; Beutel, S.; Krings, U.; Berger R.G.; Scheper, T.: Isolation and analysis of vitamin B₁₂ from plant samples. Food Chemistry 216 (2017), Nr. 1, S. 301-308

Nationale Verzehrsstudie II, Teil 1, Veröffentlichung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz Nationale Verzehrsstudie II, Teil 2, Veröffentlichung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz

ÖGE (Hrsg.): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. 2. Auflage. Neuer Umschau Verlag GmbH: Bonn, 2016

Okada, N.; Hadjoetomo, P.S.; Nikkuni, S.; Katoh, K.; Ohta, T.: Vitamin B₁₂ Content of Fermented Foods in the Tropics. Rep. Natl. Food Res. Inst. 43 (1983), S. 126-129

Ross, G. I. M.: Vitamin B₁₂ in body fluids using *Euglena gracilis*. Journal of Clinical Pathology 250 (1952), Nr. 5, S. 250–256

Rotter, D.: Vitamin-B₁₂-Mangel: Symptome: Vitamin B₁₂ Mangel Symptome: Wie erkennt man die Symptome eines Vitamin-B₁₂- Mangels? Wodurch entstehen sie? Warum werden sie oft nicht richtig erkannt?. Schneisingen: 2004. <http://www.vitaminb12.de/mangel/symptome/> 01.11.2017

Rotter, D.: Vitamin B₁₂ Tagesbedarf: Tabelle nach DGE und WHO je nach Alter und bei Schwangerschaft. Wie kann man ihn durch Lebensmittel decken? Dosierung für Präparate?. Schneisingen: 2004. <http://www.vitaminb12.de/tagesbedarf> 22.10.2017

Rotter, D.: Vitamin-B₁₂-Überdosierung: Warum eine Überdosierung von Vitamin B₁₂ kaum möglich und in der Therapie oft sogar empfehlenswert ist. Schneisingen: 2004. <http://www.vitaminb12.de/ueberdosierung/> 12.12.2017

Rucker, R.B.; McCormick D.B.; Suttie, J.W.; Zempleni, J.: Handbook of Vitamins. CRC Press... 2007

Schwarz, J.; Dschietzig, T.; Schwarz, J.; Dura, A.; Nelle, E.; Watanabe, F.; Wintgens, K.F.; Reich, M.; Armbruster, F.P.: The Influence of a Whole Food Vegan Diet with Nori Algae and Wild Mushrooms on Selected Blood Parameters. Clinical laboratory 60 (2014), Nr. 12, S. 2039-2050

Statista: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/445155/umfrage/umfrage-in-deutschland-zur-anzahl-der-veganer/>

Stobdan, T.; Chaurasia, O.P.; Korekar, G.; Mundra, S.; Ali, Z.; Yadav, A.; Singh, S.B.: Attributes of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) to Meet Nutritional Requirements in High Altitude. Defence Science Journal 60 (2010), Nr. 2, S. 226-230

Takenaka, S.; Sugiyama, S.; Watanabe, F.; Abe, K.; Tamura, Y.; Nakano, Y.: Effects of Carnosine and Anserine on the Destruction of Vitamin B₁₂ with Vitamin C in the Presence of Copper. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 61 (1997), Nr. 12, S. 2137-2139

VEBU (Hrsg.): Vitamin B₁₂ in veganen Lebensmitteln. Vitamin B₁₂ wird von Mikroorganismen gebildet. Werden bei veganer Ernährung keine Nahrungsergänzungsmittel verwendet, droht Unterversorgung. Regelmäßige Blutuntersuchungen werden empfohlen. <https://vebu.de/fitness-gesundheit/naehrstoffe/vitamin-b12-in-lebensmitteln-und-vegane-ernaehrung/>. 20.03.2018

Veganz (Hrsg.): Unternehmen. Das sind wir. <https://veganz.de/de/unternehmen/>. 12.12.2017

Wall, L.: The actinorhizal symbiosis.: J. Plant Growth Regul. 19 (2000), Nr. 2 S.167-182

Watanabe, F.: Vitamin B₁₂ Sources and Bioavailability. Experimental Biology and Medicine 232 (2007), Nr. 12, S. 1266–1274

Watanabe, F.; Nakano, Y.; Tamura, Y.; Yamanaka, H.: Vitamin B₁₂ metabolism in a photosynthesizing green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects 1075 (1991), Nr. 1, S. 36-41

Watanabe, F.; Schwarz, J.; Takenaka, S.; Miyamoto, E.; Ohishi, N.; Nelle, E.; Hochstrasser, R.; Yabuta, Y.: Characterization of Vitamin B₁₂ Compounds in the Wild Edible Mushrooms Black Trumpet (*Craterellus cornucopioides*) and Golden Chanterelle (*Cantharellus cibarius*). Journal of Nutritional Science and Vitaminology 58 (2012), Nr. 6, S.438-441

Watanabe, F.; Takenaka, S.; Katsura, H.; Masumder, S.A.M.Z.H.; Abe, K.; Tamura, Y.; Nakano, Y.: Dried Green and Purple Lavers (Nori) Contain Substantial Amounts of Biologically Active Vitamin B₁₂ but Less of Dietary Iodine Relative to Other Edible Seaweeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47 (1999), Nr. 6, S. 2341 – 2343

Watanabe, F.; Yabuta, Y.; Tanioka, Y.; Bito, T.: Biologically Active Vitamin B₁₂ Compounds in Foods for Preventing Deficiency among Vegetarians and Elderly Subjects. Journal of Agricultural and Food Chemistry 61 (2013), Nr. 28, S. 6769 – 6775

Watanabe, F.; Yabuta, Y.; Bito, T.; Teng, F.: Vitamin B₁₂-Containing Plant Food Sources for Vegetarians. Nutrients 6 (2014), Nr. 6, S. 1861 – 1873

Zhu, X.; Bisping, B.: Determination of Vitamin B₁₂ in Fermented Soybean Products by High-Performance Liquid Chromatography. Journal of Biotechnology 150 (2010), S. 330

Zhu, X.; Wang, X.; Zhang, C.; Wang, X.; Gu, Q.: A riboswitch sensor to determine vitamin B₁₂ in fermented foods. Food Chemistry 175 (2015), Nr. 11, S. 523 – 528

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Chemische Struktur von Vitamin B ₁₂ (Martens et al., 2002)	4
Abb. 2: Hauptquellen für Vitamin B ₁₂ in Prozent (Eigene Darstellung in Anlehnung an NVS II, 2008).....	7
Abb. 3: Methylierungszyklus (www.dach-liga-homocystein.org 19.03.2018).....	15
Abb. 4: Auswirkungen einer unzureichenden Vitamin-B ₁₂ -Versorgung (www.vitaminb12.de 01.11.2017).....	17
Abb. 5: Wiederfindungsrate mittels MBA nach AOAC (Kysil, 2014).....	19
Abb. 6: Einfluss von Vitamin C und Kupferionen auf die Konzentrationsbestimmung bei unterschiedlichen Temperaturen von Vitamin B ₁₂ (Nakos et al., 2017)	23
Abb. 7: Morphologie der Sanddorn-Wurzelknöllchen (Kysil, 2014) A : Wurzelknöllchen des wildwachsenden Sanddorns; B : Wurzelknöllchen des kultivierten Sanddorns	25
Abb. 8: Anreicherung von Kopfsalat in Wasserkultur mit Cyanocobalamin (Bito et al., 2013) ..	26
Abb. 9: Vitamin-B ₁₂ -Zyklus im Meer und Süßwasser (Helliwell et al., 2016).....	34
Abb. 10: Aktinorrhiza (Wall, 2000).....	43

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt verschiedener Lebensmittel (GU Nährwerttabelle 2016/17)	6
Tab. 2: Vitamin-B ₁₂ -Zufuhrempfehlung (ÖGE, 2016)	10
Tab. 3: Konkretisierte Lebensmittelauswahl aus Gruppe 4 und 5 des Ernährungskreises der DGE, bezogen auf eine wöchentliche Aufnahmeempfehlung (GU Nährwerttabelle 2016/17)	11
Tab. 4: Vitamin-B ₁₂ -angereicherte Lebensmittel	12
Tab. 5: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt verschiedener Sanddornproben	28
Tab. 6: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt von fermentierten Produkten	31
Tab. 7: Übersicht einiger Algen die Vitamin B ₁₂ benötigen (Croft et al., 2005)	33
Tab. 8: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt von Cyanobakterien	35
Tab. 9: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt von Algen	35
Tab. 10: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt verschiedener Shiitake Pilze (Bito et al., 2014)	37
Tab. 11: Vitamin-B ₁₂ -Gehalt von Pilzen	38
Tab. 12: Vitamin B ₁₂ -Gehalt von fermentiertem Weißkohl (Kysil, 2014)	44

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ort, Datum

Unterschrift