

NUEVO ACADEMICO



DR. ROBERTO LLAMAS,  
académico de número en la sección  
de química biológica.

## Datos biográficos del

### Dr. Roberto Llamas.

Hijo del señor Roberto Llamas y de la señora Apolonia Flores, vió la luz primera en Jerez, Zac., el 28 de marzo de 1909. Hizo su bachillerato en la Escuela Nacional Preparatoria y sus estudios profesionales en la Escuela Nacional de Medicina de México, donde se recibió de Médico-Cirujano el mes de abril de 1934.

Ha sido: Profesor de bio-química en la Facultad de Ciencias Químicas (actualmente desempeña el cargo con el carácter de titular); Preparador de biología y, más tarde, profesor de la misma materia en la Escuela N. Preparatoria, puesto que, con el carácter de titular, desempeña todavía; Ayudante y, posteriormente, investigador del Instituto de Biología; Médico interno (por oposición) en el Hospital General. Becado por la Secretaría de Salubridad y Asistencia para hacer estudios en los Estados Unidos de Norteamérica sobre endocrinología y nutrición, actualmente desempeña el puesto de Jefe de Servicios en el Hospital de Enfermedades de la Nutrición. En la Escuela N. de Medicina ha sido profesor ayudante de química biológica, y ha estado al frente, primero como profesor ayudante y después como profesor, del 2º Curso de clínica médica. Profesor de bio-química de la Escuela de Graduados y de Endocrinología de la misma Escuela.

En la actualidad, es Profesor de clínica de endocrinología en la Escuela N. de Medicina y Director del Instituto de Biología.

Es miembro honorario de la Sociedad Brasileira de Alimentación, fundador y secretario perpetuo de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, y miembro de la Sociedad Mexicana de Historia Natural.

Es autor de diversos trabajos que versan sobre química biológica y nutrición, presentados en Congresos y Sociedades Científicas, habiendo obtenido diploma de honor en el Séptimo Congreso Científico Panamericano por su trabajo titulado: "La alimentación de los antiguos mexicanos".

La Academia Nacional de Medicina lo recibió con el carácter de socio numerario, en la sección de Química biológica, el 14 de abril de 1948.

## ESTUDIOS SOBRE ELIMINACION URINARIA Y APROVECHAMIENTO DE LA TIAMINA EN SUJETOS NORMALES \*

Por el Dr. **ROBERTO LLAMAS**,  
académico de número.

Como continuación de nuestras investigaciones acerca del comportamiento fisiológico de los principios vitamínicos en condiciones normales o anormales, nos ocuparemos, en el presente trabajo, de fijar las características de la eliminación urinaria de la tiamina y su aprovechamiento por individuos normales.

El establecimiento de las cantidades de tiamina necesarias para que no aparezcan manifestaciones de carencia, ha sido motivo de estudio por parte de numerosos investigadores: Williams, Mason y Col. (18) encuentran manifestaciones carenciales en individuos cuya dieta contenía 0.40 y 0.50 mgs. de tiamina por día; dichas manifestaciones carenciales desaparecían al recibir los sujetos en estudio cantidades mayores de la vitamina; y para los autores, las cantidades óptimas se encuentran comprendidas entre 0.50 mgs. a 1 mg. por cada mil calorías de la dieta, lo que quiere decir que para una dieta de tres mil calorías son necesarios de 1.5 a 3.00 mgs. diarios.

Elsom y Col. (3) señalan, como resultado de sus estudios en 6 sujetos, cantidades menores: 0.35 mgs. para cada mil calorías o 0.65 en las 24 horas.

Melnick (9) encuentra, después de practicar cuidadosos estudios metabólicos en 116 personas, que las necesidades diarias de tiamina son de 1 mg. por día para el adulto o sean 0.35 mgs. para cada mil calorías, y que la dosis diaria recomendable es la de 0.50 mgs. para cada mil calorías.

---

\* Trabajo de ingreso como académico de número de la Sección de Química Biológica. Leído en la sesión del 4 de agosto de 1948. El autor contó con la colaboración técnica de Elizabeth W. de Tapia.

En nuevo estudio, Williams, Mason y Col. (19), encuentran que la disminución de tiamina ingerida a límites de 0.100 a 1.175 mgs. para cada mil calorías, se acompaña de una rápida disminución del contenido de tiamina en los tejidos, con la aparición de perturbaciones en el metabolismo de la glucosa. Cantidades algo mayores: 0.22 mgs. para cada mil calorías, provocan disminución poco apreciable de la tiamina hística y perturbaciones poco acentuadas en el metabolismo de los hidratos de carbono. Con ingestas de 0.45 mgs. por cada mil calorías, la disminución de tiamina en los tejidos es mínima y lo son también las perturbaciones del metabolismo de la glucosa. Concluyen que 0.45 mgs. por cada mil calorías representan la dosis mínima, la que, sin embargo, para encontrarse dentro de límites de seguridad, deberá ser aumentada hasta 0.60 mgs. para cada mil calorías.

Los estudios de Keys y Col. (5) en cuatro sujetos jóvenes sanos, le llevan a establecer la cifra de 0.23 mgs. por mil calorías como la óptima, y las distintas pruebas fisiológicas les demostraron que las personas en estudio no se beneficiaron en nada cuando las cantidades de tiamina se elevaron.

Hathaway y Strom (4), en estudios metabólicos efectuados en tres mujeres normales, encuentran que la ingestión diaria de 1.1 a 1.2 mgs. por día es la recomendable.

Oldham y Col. (13-14), afirman que ingestas de 0.14, 0.20 y 0.36 mgs. por cada mil calorías, son insuficientes si se juzga por las determinaciones de la tiamina eliminada por la orina. Con la ingestión de 0.51 mgs. por cada mil calorías, la eliminación urinaria es aún baja y los tejidos no se encuentran saturados, lo que se demuestra porque cuando se aumenta la cantidad ingerida, las excreciones urinarias son mayores los últimos tres días que los primeros tres de los que dura la prueba. Deducen que la ingestión diaria de tiamina probablemente no debe ser menor de 1 mg. o de 20 microgramos por kilo de peso por día.

La excreción urinaria de tiamina disminuye cuando aumentan los hidratos de carbono de la dieta, como ha sido demostrado por Reinhold (16) y colaboradores, lo que debe interpretarse como debido a un mayor consumo de la misma con eliminación mayor de sustancias derivadas de ella (cuerpos de estructura pirimidínica).

Alexander y Landwehr (1) han encontrado que 0.44 mgs. de tiamina representan la cantidad mínima para cada mil calorías que debe recibir un adulto normal cuya alimentación tenga un valor calórico de

2400 calorías. Estos resultados se obtuvieron como consecuencia de estudios metabólicos cuya duración fué de una semana, y los valores numéricos mencionados son necesarios y bastan para cubrir la destrucción de la tiamina metabolizada al desempeñar sus funciones biológicas, las pérdidas por conversión de la tiamina en piridina, la tiamina eliminada por el sudor y las pérdidas posibles por absorción intestinal incompleta.

Para fijar las necesidades mínimas de tiamina, los investigadores han recurrido a provocar la aparición de manifestaciones carenciales con cantidades progresivamente decrecientes, y a fijar las cifras menores de tiamina capaces de hacer desaparecer el cuadro carencial. También se ha recurrido al estudio de la eliminación urinaria en sujetos considerados como normales, en sujetos colocados en estados de carencia experimental mediante dietas sintéticas, o bien al estudio metabólico propiamente dicho, administrando cantidades conocidas de la vitamina a sujetos normales y a sujetos en estado de carencia.

Mickelsen y Col. (11) expresan que, aunque se han efectuado muchas determinaciones urinarias de tiamina por diversos investigadores, prácticamente no se tienen datos estadísticos, porque la mayor parte de las investigaciones han sido de corta duración y sin control alguno y son necesarios varios días para que se alcance cierto equilibrio en la excreción urinaria cuando se suministra experimentalmente determinada cantidad de la vitamina. Aún después de que el equilibrio parece establecido, existen evidentes diferencias en la eliminación de un día a otro en sujetos sometidos a las mismas condiciones experimentales.

Los autores, después de estudiar los valores de excreción de tiamina y de piramina en 22 individuos jóvenes normales durante períodos prolongados y con ingestión de 0.6; 1.0; 1.8 y 2 mgs. de vitamina por día, concluyen, después del examen estadístico de los resultados, que en general, la excreción de tiamina es proporcional a las cantidades ingeridas, pero que las variaciones son tan grandes, que un análisis exacto de las mismas es casi imposible.

Desde un punto de vista práctico, la cantidad mínima de tiamina es aquella que va a ser utilizada y por lo tanto modificada en los cambios metabólicos, a la que debe añadirse la que se pierde por defecto de absorción o por eliminaciones secundarias. Alexander y Col. (1) expresan que este mínimo de tiamina está representado por la diferencia entre la vitamina ingerida y la excretada por la orina.

Desconocemos el destino exacto de la tiamina metabolizada, aunque es sabido que por hidrólisis se separa la mitad pirimidina de su molécula (Metil-2-hidroxiometil-5-aminopirimidina-6) y que esta sustancia, su derivado etilado y la tiamina misma, son capaces de acelerar la fermentación por la levadura; además, la mencionada sustancia aumenta en la orina cuando se suministra tiamina por vía oral o parenteral.

Mickelsen y Col. (11), al insistir en el hecho de que la eliminación urinaria de tiamina puede variar notablemente en individuos normales que reciben la misma cantidad de esta vitamina, juzgan que las determinaciones de piramina urinaria tienen evidentes ventajas sobre las determinaciones de tiamina; la relación entre excreción de piramina y la ingestión de tiamina es de tipo exponencial y la curva alcanza su máximo alrededor de las 400 gamas de piramina. Dentro de los límites de ingestión habitual de tiamina (1 a 2 mgs. diarios) la mencionada relación es casi lineal y los resultados son aprovechables estadísticamente. Por otra parte, cuando la tiamina existente en la dieta es muy baja, no es posible determinarla en la orina y en cambio si es posible determinar la piramina.

La variabilidad en las cifras de eliminación urinaria de las vitaminas ya ha sido señalada por nosotros para la riboflavina y el ácido ascórbico (6-7) y hemos llegado a la conclusión de que para que estas cifras tengan algún valor como índice de estados carenciales, es preciso obtener una media aritmética de 7 determinaciones consecutivas practicadas en la orina emitida en ayunas y tomando unidades de volumen y no de tiempo, es decir, refiriendo las cantidades encontradas al centímetro cúbico o a los 100 c.c.

En este estudio hemos fijado las eliminaciones urinarias de tiamina durante siete días consecutivos en individuos sanos, sometidos a un régimen alimenticio normal y utilizando siempre la orina emitida en ayunas. Hemos hecho, además, el estudio de las eliminaciones semanales después de agregar a la dieta cantidades conocidas de la vitamina.

#### DETERMINACION DE LA TIAMINA URINARIA

Los métodos químicos están basados en la oxidación de la tiamina a tiocromo y en la apreciación fluorométrica de las cantidades de esta última sustancia; hay que hacer notar que el procedimiento puede tener diversas causas de error que radican, fundamentalmente, en la adsorción y elución de la vitamina o en la incompleta oxidación de la misma con

producción de cantidades menores de tiocromo que las que normalmente debieran obtenerse, esto explica el gran número de variantes al procedimiento general que han sido ideadas por diversos investigadores. Los más importantes trabajos a este respecto son los de Hennesey y Cerecedo, Jansen (Cit. p. Najjar), Melnick y Field, (Cit. p. Mickelsen), Egaña y Meikdejohn, (2), Mason y Williams (8), Urban y Goldman (17), Najjar y Ketron (12), Perlzweig y Col. (15) y Mickelsen y Col. (10).

#### METODOS DE ESTUDIO:

Nosotros hemos seguido el procedimiento fundamental de Hennesey y Cerecedo, con algunas pequeñas modificaciones:

##### Reactivos necesarios.

Acido sulfúrico 0. 1 Normal.

Hidróxido de sodio al 15%.

Acetato de Sodio 2.5 m.

Ferricianuro de potasio al 0.03% en hidróxido de sodio al 15%.

Cloruro de potasio al 25% en ácido clorhídrico 0. 1 Normal.

Sulfato de quinina al 0.1 mgs. en ácido sulfúrico 0. 1 Normal.

Acido acético glacial.

Acido acético al 3%.

Decalco.

Alcohol iso-butílico redestilado.

Tiamina al 10 mgs. % en ácido clorhídrico 0.001 Normal con 25% de alcohol etílico.

Se recogen 30 c. c. de orina en ayunas en un frasco que contenga 1 c. c. de ácido acético glacial. Se prepara una solución que contenga tres gamas de tiamina en cada 10 c. c.; se acidifica el pH con ácido sulfúrico 0.1 Normal y con 3 c. c. de acetato de sodio 2.5 M. Se preparan dos columnas especiales para determinación de tiamina cada una de ellas con 5 grm. de Decalco y se lavan tres veces con 10 c. c. de agua destilada y una vez con 10 c. c. de ácido acético al 3%.

Se dejan pasar 10 c. c. de la solución previamente preparada (3 gamas de tiamina). Se lavan las columnas 3 veces con agua destilada y se deja pasar suficiente solución de cloruro de potasio para obtener 25 c. c. Esta solución sirve de standard para la orina.

Después de lavar las columnas 3 veces con 10 c. c. de agua destilada y una vez con 10 c. c. de ácido acético al 3%, se dejan pasar 10 c. c. (o menos si la cantidad de tiamina es elevada) de orina. Se lavan las colum-

nas tres veces con 10 c. c. de agua destilada y se deja pasar suficiente solución de cloruro de potasio para obtener 25 c. c.

A 5 c. c. de la solución se agregan 3 de hidróxido de sodio y a otros 5 c. c. de la misma 3 c. c. de ferricianuro de potasio al 0.03%. A cada uno se añade 15 c. c. de alcohol isobutílico y se agitan durante minuto y medio; se dejan separar las capas líquidas y de la capa superior, formada por alcohol isobutílico, se colocan 10 c. c. en la celdilla del fluorómetro y se practican las lecturas. La lectura final se obtiene restando la del "blank", que está constituida por los 5 c. c. a los que no se agregó ferricianuro de potasio, de la lectura de la segunda solución y los cálculos se completan con la lectura del standard.

Se hicieron determinaciones de tiamina, durante 7 días consecutivos en la primera orina del día, (antes del desayuno), en 20 sujetos sanos, 9 hombres y 11 mujeres, sometidos a dietas consideradas como normales. Cada análisis se practicó por duplicado.

MUJERES								
Su- jeto	1	2	3	4	5	6	7	Pro- medio.
1	0.155	0.089	0.080	0.110	0.079	0.064	0.094	0.096
2	0.086	0.124	0.034	0.114	0.046	<u>0.018</u>	0.080	<u>0.072</u>
3	0.121	0.181	0.135	0.098	0.161	0.120	0.077	0.128
4	0.134	0.238	0.194	0.247	0.181	0.202	0.157	0.193
5	0.144	0.120	0.229	0.240	0.177	0.173	0.084	0.169
6	0.044	0.102	0.112	0.111	0.161	0.383	0.286	0.168
7	0.372	0.344	0.341	0.274	0.367	<u>0.719</u>	0.436	<u>0.409</u>
8	0.158	0.086	0.403	0.102	0.123	0.080	0.197	0.150
9	0.288	0.141	0.266	0.190	0.198	0.264	0.180	0.218
10	0.303	0.154	0.280	0.150	0.161	0.240	0.310	0.228
11	0.267	0.065	0.176	0.227	0.106	0.132	0.228	0.172

De nuestros hallazgos se deduce que la máxima eliminación en mujeres está representada por la cifra 0.719 y la mínima por 0.018 de gama por c.c. Los promedios semanales tienen como cifra mínima la de 0.072 y como máxima la de 0.409 por c.c. El promedio de los promedios semanales es de 0.182 gamas por c. c.

HOMBRES.								
Su- jeto	1	2	3	4	5	6	7	Pro- medio.
1	0.228	0.343	0.190	0.270	0.208	0.196	0.295	0.247
2	0.182	0.107	0.100	0.124	0.154	0.072	0.142	<u>0.126</u>
3	<u>0.060</u>	0.134	0.068	0.529	0.185	<u>0.596</u>	0.200	0.253
4	0.080	0.134	0.141	0.099	0.138	0.352	0.160	0.158
5	0.157	0.229	0.226	0.432	0.229	0.176	0.172	0.232
6	0.204	0.277	0.310	0.262	0.354	0.286	0.160	<u>0.265</u>
7	0.102	0.160	0.134	0.224	0.297	0.190	0.319	0.211
8	0.175	0.180	0.239	0.096	0.071	0.236	0.142	0.163
9	0.218	0.187	0.144	0.130	0.112	0.091	0.168	0.150

En las personas de sexo masculino la eliminación máxima fué de 0.596 y la mínima de 0.060 gamas por c.c. Los promedios de eliminación semanal tienen como cifra mínima la de 0.126 y como máxima la de 0.265 gamas por c. c. El promedio de los promedios semanales es de 0.200 de gama por c. c.

Como se puede observar, las eliminaciones diarias de tiamina urinaria son extraordinariamente variables de un sujeto a otro y variables también para cada uno de ellos en los distintos días de la semana. Las diferencias son tan grandes que estadísticamente parecen tener muy poco valor para poder juzgar la normalidad o anormalidad del equilibrio biológico por lo que a tiamina se refiere. Sin embargo, los datos pueden, a

pesar de sus grandes diferencias, ser aprovechables cuando se comparan con los resultados obtenidos en sujetos en estado de carencia, aspecto que requiere un estudio posterior.

En las 11 personas de sexo femenino se practicaron 7 determinaciones consecutivas de tiamina en la orina emitida en ayunas previa ingestión doce horas antes, de un miligramo de esta sustancia, los resultados se consignan en el siguiente cuadro:

MUJERES								
Su- jeto	1	2	3	4	5	6	7	Pro- medio.
1	0.418	0.600	0.266	0.352	0.320	0.380	0.228	0.366
2	0.036	1.000	1.210	1.340	0.520	0.560	0.690	0.840
3	1.250	1.500	1.480	0.920	1.190	1.370	1.110	1.260
4	1.080	0.990	1.000	1.690	1.810	1.240	1.000	1.260
5	1.120	0.720	0.910	1.270	1.790	0.680	0.940	1.060
6	0.690	1.320	0.900	1.880	1.280	1.080	1.420	1.220
7	1.080	1.140	1.140	1.380	1.470	1.500	1.480	1.310
8	1.640	0.410	0.460	1.030	0.640	1.020	1.830	1.000
9	0.880	0.840	0.850	0.720	1.290	0.950	0.900	1.060
10	1.040	1.640	0.840	1.620	0.750	3.080	2.670	1.660
11	1.890	1.580	1.780	1.640	1.170	1.120	1.230	1.340

Las diferencias entre los promedios de eliminación semanal en condiciones normales y los promedios de eliminación semanal previa ingestión de 1 miligramo de tiamina son los siguientes:

Sujetos	Diferencias
1	0.27
2	0.79
3	1.13
4	1.06
5	0.89
6	1.05
7	0.90
8	0.85
9	0.84
10	1.43
11	1.17

En 9 personas del sexo masculino en las que se estudió la eliminación diaria de tiamina en condiciones normales, se hizo también el estudio de la eliminación urinaria durante 7 días consecutivos previa administración de 1 miligramo diario de esta sustancia, los resultados se consignan con el siguiente cuadro:

HOMERES								
Su- jeto.	1	2	3	4	5	6	7	Pro- medio
1	0.554	0.320	1.120	1.720	1.160	1.030	1.070	1.050
2	0.460	0.460	0.580	0.590	0.720	0.600	0.503	0.562
4	2.490	1.680	1.390	0.880	1.150	0.470	1.130	1.310
6	0.570	0.700	1.200	0.930	0.740	1.000	0.360	0.780
8	0.250	0.520	1.340	1.740	0.950	1.210	1.710	1.000
9	0.560	1.450	0.870	1.440	1.740	0.750	0.360	1.020

Las diferencias entre los promedios de eliminación semanal en condiciones normales y los promedios de eliminación previa ingestión de tiamina son los siguientes:

Sujetos	Diferencias
1	0.81
2	0.44
4	1.15
6	0.52
8	0.93
9	0.87

#### DISCUSION

La eliminación urinaria de la tiamina, como la de otras vitaminas, es muy variable en individuos sanos sometidos a dietas consideradas como normales. Aún aquellos con dietas experimentales conteniendo cantidades perfectamente conocidas de la misma, eliminan tiamina por la orina en cantidades muy variables. Esto lleva a la conclusión de que es imposible una elaboración estadística de los datos que se obtienen debido precisamente a sus grandes diferencias; sin embargo, el estudio de la eliminación urinaria de la tiamina, efectuado durante 7 días consecutivos, puede dar una cifra más útil representada por el promedio de dichas determinaciones. Estos promedios son también muy variables y para poder ser aprovechados se requieren estudios semejantes en individuos en estado de carencia. Las diferencias entre tiamina excretada antes y después de la ingestión de cantidades conocidas de esta sustancia, y utilizando también las cifras promedio, son susceptibles de ser aprovechadas para poner en evidencia estados carenciales previa comparación con los resultados obtenidos en sujetos en estado de carencia, lo que debe ser motivo de otra investigación.

## RESUMEN

En 11 personas del sexo femenino y en 9 del masculino, sanas y sometidas a dietas consideradas como normales, se practicó el estudio de la eliminación urinaria de tiamina durante 7 días consecutivos; la cifra más baja fué la de 0.018 y la más alta la de 0.719 de gama por centímetro cúbico.

Los promedios de eliminación semanal dieron como cifra mínima la de 0.072 y como máxima la de 0.409.

Las diferencias entre promedios de eliminación semanal antes y después de ingerir un miligramo de tiamina son: la mínima 0.27 y la máxima 1.43.

Estos resultados, a pesar de sus grandes variaciones, quizá puedan ser utilizados para asegurar la presencia de deficiencias de tiamina cuando se conozcan las cifras correspondientes en individuos en estado de carencia. \*

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Alexander, B. y Landwehr. 1946. Studies of Thiamine Metabolism in Man. Role of Fecal Thiamine in Human Nutrition. J. Clinic Invest. 25 : 287.
- 2 Egafía, E. y Melklejohn, A. B. 1941. The Estimation of Thiamine in Urine. J. Biol. Chem. 141 : 959.
3. Elsom, K. O., Reinhold J. G., Nicholson, J. T. and Roberts, L. J. 1942. Studies of the B. Vitamins in the Human Subject. V. The Normal Requirement for Thiamine; Some Factor Influencing its Utilization and Excretion. J. Med. Sci. 203 : 569.
- 4 Hathaway, M. L., Strom, J. E. 1946. A Comparison of Thiamine Synthesis and Excretion in Human Subjects on Synthetic and Natural Diets. The J. of Nutrition 32 : 1.
- 5 Keys, A., Henschel, A. F., Michelson, O. and Chornock, C. 1942. The Normal Requirement for Thiamine; Some Factors Influencing its Utilization and Excretion. Am. J. Med. Sci. 203 : 569.
- 6 Llamas, R. 1945-1946. Algunos aspectos del metabolismo de la Riboflavina. Su eliminación urinaria. Rev. Med. Hosp. Gen. 8 : 615.
- 7 Llamas, R. 1946. La Importancia del Laboratorio en el Diagnóstico de los Estados Carenciales. Trabajos presentados por el Hospital de Enfermedades de la Nutrición en el Primer Congreso Mexicano de Medicina.

- 8 **Mason, H. L., Williams, R. D.** 1942. Determination of Thiamine in Urine by the Thiocrome Method. Estimation of the Blank. *J. Biol. Chem.* 146: 589.
- 9 **Meinick, D.** 1942. Vitamin B<sub>1</sub> Requirements of Man. *J. Nutrition* 24 : 139.
- 10 **Mickelsen, O., Condit, H., Keys, A.** 1945. The Determination of Thiamine in Urine by Means of Thiocrome Technique. *J. Biol. Chem.* 160 : 361.
- 11 **Mickelsen, O. Caster, W. O., Keys, A.** 1947. A Statistical Evaluation of the Thiamine and Pyramin Excretion of Normal Young Men on Controlled Intakes of Thiamine. *J. Biol. Chem.* 168: 415.
- 12 **Najjar, V. A., Ketrom, K. C.** 1944. An Improved Method for the Determination of Thiamine in Urine. *J. Biol. Chem.* 152 : 579.
- 13 **Oldham, H. Johnston, F. Kleiger, S. Heddenrich, J., Arismendi, H.** 1944. A Study of the Riboflavin and Thiamine Requirements of Children of Preschool Age. *J. Nutrition* 27 : 435.
- 14 **Oldham, H. G., Davis, M. V., Roberts, L. J.** 1946. Thiamine Excretion and Blood Levels of Young Women on Diets Containing Varying Levels of the "B" Vitamins With Some Observations of Niacin and Pantothenic Acid. *The J. of Nutrition.* 32 : 163.
- 15 **Perlweig, W. A., Kamin, H., Guet, L., Blalock, J. V.** 1945. A Modification of the Thiocrome Method for the Rapid Determination of Thiamine in Urine. *Arch. of Bioch.* 6 : 97.
- 16 **Reinhold, J. G., Nicholson, J. T. L., Elsom, K. O.** 1944. The Utilization of Thiamine in The Human Subject: the Effect of High Intake of Carbohydrate or of Fat. *J. of Nutrition.* 28 : 51.
- 17 **Urban, F., Goldman, M. L.** 1944. A Method for the Determination of Thiamine in the Urine. *J. of Biol. Chem.* 152 : 329.
- 18 **Williams, R. D., Mason, H. L., Smith, B. F. and Wilder, E. M.** 1942. Induced Thiamine Requirement of Man. *Arch. Int. Med.* 69 : 721.
- 19 **Williams, R. D., Mason, H. L. and Miller, E. M.** 1943. The Minimum Daily Requirement of Thiamine of Man. *J. Nutrition.* 25 : 71.