

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Lang)

Verträglichkeit bestrahlter Fette*)

Von KONRAD LANG

Mit 7 Tabellen

(Eingegangen am 9. Oktober 1961)

In den bisher durchgeföhrten Untersuchungen über die Verträglichkeit von bestrahlten Fetten und Ölen wurden diese mit Strahlendosen von wenigen Megarep (etwa bis zu 6 Megarep) bestrahlt. Die Fütterungsversuche mit diesen Fetten ergaben keine schwerwiegenden Befunde, die auf eine Unverträglichkeit oder gar Toxicität bestrahlter Fette schließen lassen. Auf der anderen Seite ist bekannt, daß Polyensäuren erheblich strahlenempfindlich sind und daß bei der Strahleneinwirkung in ihnen sich Veränderungen abspielen, die jenen bei der Autoxydation entsprechend sind. In den letzten Jahren wurden aber aus vielen Laboratorien Befunde veröffentlicht, die zeigen, daß autoxydierte Fette — je nach Schwere der Behandlung — mehr oder minder stark toxische Eigenschaften annehmen können.

So lange der Schädigungsmechanismus unbekannt ist, durch den bestrahlte Fette unter Umständen schädlich wirken können, ist es möglich, daß beginnende Schäden aus Unkenntnis der zu erwartenden Symptome übersehen werden, ein altbekanntes und heikles Problem bei der Beurteilung der etwaigen chronischen Toxicität von Lebensmittelzusatzstoffen. Dasselbe Problem, die Beweiskraft von negativen Befunden, ergibt sich aber auch bei der Frage nach der Verträglichkeit bestrahlter Fette.

Wir haben daher in unserem Institut Versuche unternommen, um auch den Effekt der Verfütterung von Fetten zu studieren, die mit wesentlich höheren Dosen als es zur Sterilisierung oder Pasteurisierung von Lebensmitteln notwendig ist, bestrahlt worden waren. Zweck dieser Versuche war: 1. Feststellung, ab welcher Strahlendosis mit dem Auftreten von Schäden zu rechnen ist, um daher gewissermaßen die Sicherheitsspanne zu bestimmen, 2. Symptome und Mechanismus der zu erwartenden toxischen Effekte kennen zu lernen.

Zu diesem Zwecke haben wir in einer von mehreren Versuchsreihen an je 80 Ratten (Sprague-Dawley-Stamm) Sojaöl verfüttert, das mit 0, 2,5, 10, 50 und 100 Megarep β -Strahlen bestrahlt worden war. Die Bestrahlung wurde in dem Institut für Lebensmittelfrischhaltung in Karlsruhe (Direktor Prof. Dr. KUPRIANOFF) vorgenommen. Die Strahlenquelle war ein VAN DER GRAAF-Elektronenbeschleuniger mit einer Teilchenenergie von 1 MeV. Das Öl wurde während der Bestrahlung so gekühlt, daß die Temperatur nie über 25° C anstieg.

*) Vorläufige Mitteilung. Vorgetragen auf dem Symposium der FAO/WHO/IAEA in Brüssel vom 23.—30. Oktober 1961.

Das Fett machte in der Diät 20 Gewichtsprozente entspr. etwa 36% der Kalorien aus (Tab. 1).

Der Wachstumsversuch ergab erst bei einer Dosis von 100 Megarep eine Wachstumsverzögerung. Diese war mit einer starken Abnahme der Futter- und Protein-Efficiency verbunden, also nicht etwa durch eine Verminderung des Futterverzehrs infolge des Geschmacks des bestrahlten Öls bedingt (Tab. 2). Ursache für sie war demnach eine Stoffwechselstörung.

Tabelle 1

Diät	Tagesdosen an Vitaminen
33,3% Magermilchpulver	100 γ Thiamin
20 % Casein	100 γ Riboflavin
20 % Sojaöl	1000 γ Niacin
21 % Stärke	100 γ Pantothenäure
3 % Torulahefe	50 γ Pyridoxin
2 % Cellulose	15000 γ Cholinchlorid
0,7% Salzmischung	3000 γ p-Aminobenzoësäure
	20 γ Folsäure
	5 γ Biotin
	1 γ Cobalamin
	100 γ Vitamin K
	30 IE Vitamin A
	3 mg Tocopherylacetat

Als weiteres Zeichen eines toxischen Effektes des mit 100 Megarep bestrahlten Öls ergaben sich eine nach etwa 3 Monaten deutlich werdende Letalität der Tiere. Nach 6 Monaten Fütterungszeit waren 18% der Tiere gestorben, während in den anderen Gruppen noch alle Tiere am Leben waren. Des öfteren wiederholte Resorptionsversuche ergaben, daß von den mit 100 Megarep bestrahltem Öl im Mittel nur 88%, von dem unbestrahlten Kontrollöl aber 97% resorbiert wurden. Dasselbe ist bekanntlich auch bei den autoxydierten Ölen der Fall, da die entsprechenden Polymeren bzw. Oxypolymeren der Fettsäuren nur schlecht resorbierbar sind.

Bei einer Strahlendosis von 50 Megarep ergaben weder Wachstum noch Protein-Efficiency eine Verschlechterung. Auch die Fortpflanzung entsprach

Tabelle 2. Bestrahltes Sojaöl — Versuch 1961

	Gewichtszunahme in Wochen					Protein-Efficiency in Wochen					
	2	4	6	8	10	2	4	6	8	10	
♂ Kontrollen	58	118	180	220	248	2,24	1,88	1,70	1,47	1,29	
2,5 Megarep	61	118	178	219	246	2,33	1,97	1,73	1,48	1,28	
10 "	59	127	187	221	247	2,23	1,95	1,74	1,44	1,26	
50 "	56	114	180	211	232	2,20	1,90	1,74	1,45	1,23	
100 "	58	109	147	171	186	2,06	1,66	1,39	1,19	1,01	
♀ Kontrollen	45	90	124	130	166	—	1,90	1,59	1,30	1,12	0,96
2,5 Megarep	51	95	130	154	171	2,08	1,69	1,40	1,18	1,03	
10 "	50	97	132	152	180	1,99	1,67	1,37	1,12	1,00	
50 "	48	90	123	145	162	1,98	1,60	1,57	1,15	0,98	
100 "	52	92	113	134	146	1,92	1,44	1,15	0,99	0,84	

Tabelle 3. Fortpflanzung

	Kontrolle	2,5	Strahlendosis 10 Megarep	50
Zahl der Weibchen	40	39	40	40
Zahl der Jungen	306	288	275	283
Mittlere Wurfstärke	10,5	9,6	9,5	9,1
% sterile Weibchen	27	21	30	20

Tabelle 4. Leberfunktionsprobe mit Bromsulphthalein

	Retention nach 20' in %
Kontrolle	0,77 ± 0,172
2,5 Megarep	1,09 ± 0,210
10 "	0,71 ± 0,217
50 "	1,96 ± 0,390
100 "	1,93 ± 0,500

dem der Kontrollen (Tab. 3). Weiterhin ließen sich auch nach 24 Wochen noch keine Gewichtsverluste und keine erhöhte Sterblichkeit der Tiere feststellen. Jedoch zeigten Leberfunktionsteste (mit Bromsulfophthalein) eine deutliche Störung der Leberfunktion (Tab. 4). Außerdem waren die Plasmaproteine vermindert.

Ab der 24. Woche ergaben sich eine zunehmende Gewichtsabnahme und einsetzende erhebliche Sterblichkeit der Tiere. Nach 32 Wochen waren von 40 eingesetzten Männchen 12 gestorben.

Ein mit 50 Megarep bestrahltes Sojaöl ist demnach nicht symptomlos verträglich.

Dagegen ergab die Verfütterung von mit 2,5 und 10 Megarep bestrahltem Sojaöl bei einer Versuchszeit von 32 Wochen in keinem Test (Wachstum, Protein-Efficiency, Gewichtskontrolle, Fortpflanzung, Leberfunktion, Plasma-proteine, Blutbild) einen abnormen Befund.

Ein zweiter Versuch mit 60 Tieren je Gruppe mit einem mit 100 Megarep bestrahltem Sojaöl ergab praktisch dieselben Befunde, also Wachstumsverzögerungen, Verminderung der Protein-Efficiency, nach einigen Monaten deutlich werdende erhöhte Sterblichkeit.

Da Fischöle besonders reich an Polyensäuren sind und im Gegensatz zu dem Sojaöl und anderen Pflanzenölen auch einen relativ hohen Gehalt an Polyensäuren mit 3, 4, 5 und 6 Doppelbindungen haben, ferner infolge ihres äußerst geringen Tocopherolgehaltes äußerst oxydationsempfindlich sind, haben wir auch einen Fütterungsversuch mit einem mit 100 Megarep bestrahlten Fischöl durchgeführt. Auch hier stellten wir eine mit einer Abnahme der Protein-Efficiency verbundene Wachstumsverzögerung fest, die aber nicht stärker war als die bei dem bestrahlten Sojaöl beobachtete. Eine erhöhte Sterblichkeit konnten wir nicht feststellen. Vermutlich war die Zeitspanne hierfür zu kurz, da die Fütterungszeit nur 10 Wochen betrug.

Wir haben viel Mühe darauf verwendet, den Mechanismus der Schädigung durch die bestrahlten Öle aufzuklären. Ich darf daran erinnern, daß er auch für die autoxydierten Fette praktisch unbekannt ist. Selbst bei der Verfütte-

rung sehr toxischer Fraktionen von autoxydierten Fetten ergaben weder die histologische Kontrolle noch die biochemische Analyse der Tiere eine eindeutige oder zum mindesten plausible Erklärung für die Todesursache.

Unsere bisherigen Erfahrungen bei der Verfütterung von bestrahlten Ölen sind ähnlich. Die histologische Untersuchung der verstorbenen Tiere ergab keinen Hinweis auf die mögliche Todesursache. Am Magen-Darm-Trakt wurden keine nennenswerten entzündlichen Veränderungen festgestellt. Die lokale Reizwirkung selbst des mit 100 Megarep bestrahlten Sojaöls ist minimal. Auffallend ist eine Vermehrung der Lebergewichte. Das histologische Bild der Leber ist aber praktisch unverändert. Ebenfalls ohne abnormen Befund waren die histologischen Bilder von Nieren und Herz. Der einzige auffallende Befund war die Ablagerung eines braunen Pigments, das nach Behandlung mit NaOH eine Reaktion auf Eisen gibt, in Leber und Milz. Über die Natur des Pigments können wir heute noch keine Aussagen machen.

Tabelle 5. Bestrahltes Sojaöl – Versuch 1961

	ml Wasseraufnahme in Wochen				
	2	4	6	8	10
Kontrollen	253	537	901	1261	1666
2,5 Megarep	215	493	830	1182	1557
10 "	216	482	842	1180	1530
50 "	216	469	821	1183	1546
Kontrollen	212	481	823	1182	1588
2,5 Megarep	211	482	800	1150	1528
10 "	207	445	744	1064	1415
50 "	226	477	786	1132	1500

Bei einigen Tieren, die mit dem 100 Megarep bestrahlten Sojaöl gefüttert wurden, entwickelte sich nach 3 Monaten eine leichte hypochrome Anämie. Dies war aber nicht in allen Versuchsreihen der Fall. Der Bromsulfophthaleintest ergab eine deutliche Störung der Leberfunktion.

Das histologische Bild der Niere und die übliche klinisch-chemische Untersuchung des Harns ergaben keinen Hinweis auf eine Störung der Nierenfunktion. Der Wasserverbrauch unserer Ratten wurde von uns laufend bestimmt. Er war nie verändert (Tab. 5). Ein auffallendes Symptom des Mangels an essentiellen Fettsäuren ist eine Störung des Wasserhaushaltes, die man leicht durch eine stark vermehrte Wasseraufnahme der Tiere nachweisen kann. Unsere negativen Befunde machen es unwahrscheinlich, daß die toxischen Wirkungen des mit hohen Strahlendosen bestrahlten Öls auf einen Mangel an essentiellen Fettsäuren zurückzuführen ist (etwa durch Zerstörung der essentiellen Fettsäuren oder Bildung von Antagonisten).

Der auffallendste Befund, den wir erheben konnten, war die Entstehung einer starken Hypoproteinämie, verbunden mit einer charakteristischen Veränderung des Elektrophoresediagramms der Serumproteine im Sinne einer starken Zunahme der γ -Globuline (Tab. 6). Das weist auf eine schwere Störung im Eiweißstoffwechsel hin. In derselben Richtung gelegen ist auch die erwähnte schwere Abnahme der Protein-Efficiency. Hierbei ist aber sehr auffallend, daß das histologische Bild der Leber praktisch unverändert geblieben ist.

Tabelle 6. Plasmaproteine

	n	Gesamt-Protein g %	Albumin %	α %	Globuline β %	γ %
Kontrolle	6	6,35	50,7	10,5	21,6	17,2
100 Megarep	10	4,42	42,17	12,10	18,23	25,9

Wir beabsichtigen, unsere Versuche mit bestrahlten Fetten fortzusetzen und in Richtung auf biochemische und physiologische Teste an den mit bestrahlten Fetten gefütterten Tieren, ferner bezüglich der Histologie zu erweitern.

Tabelle 7. Kennzahlen der bestrahlten Fette

Substanz	Strahlendosis in Mrad.	Viskosität cP (20 °C)	Dielektrizitäts- konstante (20°)	Jodzahl	Peroxydzahl
Sojaöl	0	67,4	3,28	131	0
	100	196,0	3,40	113	9,3
	200	452,5	3,34	—	—
Fischöl	0	75,8	4,85	139	0,8
	100	234,8	4,20	105	30

Unsere Versuche ergaben Hinweise, daß die Verfütterung von 20 Gewichtsprozenten Fett an Ratten unphysiologisch ist und daher abnorme Reaktionen auslöst. Wir fanden Verschlechterungen der Fortpflanzung und Verminderung der Plasmaproteine. Wir werden diesen Punkt, der für die Bewertung vieler Versuche mit chemisch oder durch Strahleneinwirkung veränderten Fetten von großer Bedeutung ist, in ausgedehnten Versuchsreihen aufzuklären versuchen.

Anmerkung bei der Korrektur

Inzwischen hat sich nach einer Latenzzeit von 40 Wochen auch eine hohe Letalität der mit dem mit 10 Mrad bestrahltem Sojaöl gefütterten Tiere ergeben.

Als weitere Symptome der Verfütterung von bestrahlten Sojaölen wurden festgestellt: eine histologisch nachweisbare Inaktivierung der Schilddrüse, Senkung der Körpertemperatur, zunehmend stärkere Abnahme des Sauerstoffverbrauchs (Grundumsatz), Bradykardie und eine Linksverschiebung der Zellkerngrösse in der Nebennierenrinde.

Zusammenfassung

Chronische Fütterungsversuche an Ratten mit bestrahltem Sojaöl haben ergeben, daß das Öl ab einer Strahlendosis von 10 Mrad toxische Eigenschaften annimmt, die sich in einer hohen Letalität der Tiere äußert. Mit fallender Strahlendosis wird die Latenzzeit bis zum Auftreten der Symptome immer länger.

Die Todesursache der Tiere konnte noch nicht geklärt werden. Jedoch konnten an ihnen einige auffallende Symptome festgestellt werden: Ablagerung eines braunen, Eisen enthal-

tenden Pigments in der Leber und in der Milz, Funktionsstörungen der Leber, Veränderungen der Plasmaproteine, Inaktivierung der Schilddrüse, Abnahme der Körpertemperatur, Senkung des Grundumsatzes, Bradykardie, Linksverschiebung der Zellkerngröße in der Nebennierenrinde. Die histologische Untersuchung der anderen Organe ergab keine auffallenden Befunde, insbesondere auch nicht des zentralen Nervensystems. Am Verdauungstrakt wurden nur ganz geringfügige Veränderungen gefunden. Die Ausnutzung des bestrahlten Öls ist verschlechtert.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. Dr. KONRAD LANG, 6500 Mainz, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität