

der Katecholamine gebrauchten Chemikalien die Fluoreszenz des Tabaks nicht. Deshalb muß vor einer Katecholamin-Bestimmung im Blut das Rauchen untersagt werden. Sollte dies jedoch nicht gemacht worden sein, kann man (wie unsere Versuche beweisen) die zwei verschiedenen Fluoreszenzen durch Anwendung einer Jod-Lösung (Lugol-Lösung) auseinanderhalten. Diese Lösung vernichtet nämlich die Katecholamin-Fluoreszenz fast sofort, läßt jedoch die Tabak-Fluoreszenz unverändert bestehen.

An dieser Stelle möchten wir auch noch auf eine andere Fehlerquelle hinweisen, die das Rauchen dadurch hervorruft, daß es eine bedeutende Erhöhung der Blutkatecholamin-Konzentration verursacht. Darüber haben wir bereits in unseren früheren Mitteilungen berichtet.

Zusammenfassung

Verfasser haben ein Verfahren zur Bestimmung der fluoreszierenden Stoffe des Tabakrauchs im Blut ausgearbeitet. Sie haben nachgewiesen, daß die fluoreszierenden Stoffe des Tabaks im Blut erscheinen. Fünf Minuten nach Rauchen einer Zigarette erreicht die Konzentration der fluoreszierenden Stoffe des Tabaks im Blut ihr Maximum. Dann nimmt die Konzentration dieser Stoffe stufenweise ab und in ungefähr 40–60 Min. verschwinden sie restlos aus dem Blute. Verfasser haben die Menge sämtlicher fluoreszierenden Stoffe des Tabaks mit Hilfe einer Coumarin-Eichkurve in Coumarin $\gamma\%$ ausgedrückt.

Verfasser machen darauf aufmerksam, daß die fluoreszierenden Stoffe des Tabaks die Bestimmung der Katecholamine beeinträchtigen können, und das um so mehr, da — laut ihrer Versuche — der Tabak selbst eine beträchtliche Steigerung der Blutkatecholamin-Konzentration verursacht.

Literatur

1. LARSON, P. S., H. B. HAAG, and H. SILVETTE, Tobacco; Experimental and Clinical Studies. S. 932 ff. (Baltimore 1961).
2. UNGHÁRY, L., I. CSOMAI, M. HOVÁNYI, and F. FARKAS, *Cardiologia*, 1962 (im Druck).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. L. UNGHÁRY, Balneologisches und Rheumaforschungsinstitut, Budapest XI (Ungarn)

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

Untersuchungen über die Spaltbarkeit von autoxydierten, epoxydierten, hydroxylierten und bestrahlten Sojaölen durch Pankreaslipase und Leberesterase in vitro

VON E. DEGWITZ UND K. LANG

Mit 3 Tabellen

(Eingegangen am 27. November 1962)

Arbeiten unseres Institutes hatten in Übereinstimmung mit der Literatur ergeben, daß die Ausnutzung autoxydierter Öle verschlechtert ist (1). Dasselbe fanden wir auch für bestrahlte Öle (2), nicht dagegen für epoxydierte (3) und

hydroxylierte. Wir haben weiterhin festgestellt, daß autoxydierte Öle sehr viel länger im Magen-Darm-Trakt liegen bleiben als unbehandelte und daß sie die Motorik des Verdauungstraktes hemmen (1). Dasselbe hatten SCHREIBER und NASSET (4) sowie MONTY (5) für bestrahlte Fette nachgewiesen. Nach MONTY hemmen Aldehyde (n-Heptanal, n-Decanal, n-Dodecanal) und Ketone (n-Heptan-4-on und n-Nonan-2-on) die Pankreaslipase. Die Hemmung verlangt aber hohe Konzentrationen an den genannten Carbonylverbindungen. Um eine 15%ige Hemmung der Pankreaslipase zu bewirken, mußten dem als Substrat dienenden Maisöl 5% Dodecanal zugesetzt werden.

In Fortsetzung unserer Arbeiten über behandelte Fette interessierten wir uns auch für die Frage nach der enzymatischen Spaltbarkeit veränderter Fette. Wir haben daher entsprechende Versuche *in vitro* mit hochgereinigter Pankreaslipase und hochgereinigter Leberesterase durchgeführt.

Methodik

1. Behandlung des Sojaöles

Als Ausgangsprodukt diente stets raffiniertes Sojaöl*), das in der vorliegenden Arbeit als „unbehandelt“ bezeichnet wurde.

1 a) Bestrahlung: die Bestrahlung erfolgte mit einem VAN DER GRAAF-Elektronenbeschleuniger und einer Teilchenenergie von 0,5 MeV im Institut für Lebensmittelfrischhaltung (Direktor: Prof. Dr. KUPRIANOFF).

1 b) Autoxydation: jeweils etwa 650 ml „unbehandeltes“ Sojaöl wurden in einem Ölbad von 180 °C erhitzt und gleichzeitig mittels einer Wasserstrahlpumpe Luft durchgesaugt. Das Luftvolumen wurde mit Hilfe einer Gasuhr gemessen.

1 c) Epoxydation: die Epoxydierung wurde nach Angabe von GALL und GREENSPAN (6) durchgeführt.

Das Ausmaß der Epoxydierung ist in den Tabellen auf die Anzahl der Doppelbindungen des „unbehandelten“ Sojaöls bezogen, d. h. eine Epoxydierung sämtlicher Doppelbindungen wurde als 100%ige Epoxydierung bezeichnet. Als Grundlage zur Errechnung der Anzahl der Doppelbindungen diente die ermittelte Jodzahl von 131. Es wurde der theoretisch berechnete Grad der Epoxydierung angegeben (die praktische Ausbeute stimmte mit 5,5%, 11% bzw. 22% mit dem theoretisch berechneten Ausmaß gut überein. Lediglich bei dem Öl, für das theoretisch eine 60%ige Epoxydierung berechnet worden war, fand sich eine größere Diskrepanz zur praktischen Ausbeute, letztere ergab nur 40%).

1 d) Hydroxylierung: Zur Darstellung von hydroxyliertem Sojaöl wurde in entsprechendem Grad epoxydiertes Öl hydrolysiert. Hierfür wurden 1 kg epoxydiertes Sojaöl mit 400 ml aq. dest. und Schwefelsäure (derjenigen Menge entsprechend, die für die Epoxydierung verwendet wurde) versetzt und bei 100 °C unter heftigem Rühren 2 Std. gekocht. Anschließend wurde abgekühlt und dann säurefrei gewaschen und über Phosphorpentoxid getrocknet.

In der Annahme, daß die epoxydierten Doppelbindungen quantitativ hydrolysiert wurden, wurde in den Tabellen als Ausmaß der Hydroxylierung

*) Freundlicherweise vom Verein Deutscher Ölfabriken Mannheim überlassen.

der theoretisch berechnete Grad der Epoxydierung des als Ausgangsprodukt verwendeten Sojaöls angegeben (siehe unter 1 c). Die Bestimmung der Hydroxylzahlen war besonders bei den höher hydroxylierten Sojaölen stark erschwert und daher ungenau.

2. Darstellung von Pankreaslipase

Die Darstellung erfolgte nach Vorschrift von MARCHIS-MOUREEN u. a. (7).

3. Darstellung von Leberesterase

Die Darstellung erfolgte nach Angabe von CONNORS u. a. (8).

4. Bestimmung der Enzymaktivitäten

Die Bestimmung der Enzymaktivität der Pankreaslipase und der Leberesterase erfolgte nach MARCHIS-MOUREEN u. a. (7), wurde jedoch in folgenden Punkten abgeändert:

4 a) Die Öle wurden für die Emulgierungen nicht neutralisiert

4 b) Der Bestimmungsansatz bestand aus 30 ml Emulsion, 0,9 ml Taurocholsäure und 59,1 ml aq. dest. Er wurde im Wasserbad von 37 °C vorgewärmt, dann unter Rühren durch Zugabe von 0,05 n NaOH auf ein pH von 9 ein-

Tabelle 1. Kennzahlen der Sojaöle

Behandlung des Sojaöls		Kennzahlen			
		Jodzahl	% Jodzahlverlust	Epoxydzahl	% Epoxydierung*)
<i>unbehandelt</i>		131		0	
<i>bestrahlt</i>					
Strahlendosis:					
2,5 Mrad		123	6	0	
10 Mrad		119	9	0	
50 Mrad		116	11	0	
<i>autoxydiert</i>					
Std.	m ³ Luft				
3	1,2	109	17	8,2	
10	4,0	81	38	8,7	
15	6,0	76	42	12,6	
20	8,0	70	47	12,0	
<i>epoxydiert</i>					
6%		109	17	16,8	5,5
12%		97	26	43,1	11
25%		86	35	62,6	22
60%		37	72	114,3	40
<i>hydroxyliert</i>					
6%		107	18		
12%		95	28		
25%		84	36		
60%		38	71		

*) Berechnung siehe Methoden 1 c).

Tabelle 2. Spaltbarkeit von unbehandeltem, bestrahltem, autoxydiertem, epoxydiertem und hydroxyliertem Sojaöl durch Pankreaslipase in vitro

Substrat	Durch die Enzymaktivität freigesetzte Mikroäquivalente Fettsäure		
	Spaltungszeit:		Gesamtmenge an Mikro- äquivalenten Fettsäure im Spaltungsansatz*)
	25 Min.	40 Std.	
<i>unbehandeltes Sojaöl</i>	50	225	7480
<i>bestrahltes Sojaöl</i>			
Strahlendosis:			
2,5 Mrad	48	108	7040
10 Mrad	38	89	7280
50 Mrad	32	60	7080
<i>autoxydiertes Sojaöl</i>			
Std.	m³ Luft		
3	1,2	48	105
10	4,0	48	105
15	6,0	45	95
20	8,0	45	85
<i>epoxydiertes Sojaöl</i>			
Epoxydierung:			
6%	43	205	7090
12%	25	190	7290
25%	23	185	7050
60%	18	113	7560
<i>hydroxyliertes Sojaöl</i>			
Hydroxylierung:			
6%	48	220	7240
12%	45	173	6970
25%	45	175	7230
60%	25	160	6980

*) Errechnet aus der Verseifungszahl.

gestellt. Das pH wurde im Verlauf von 5–15 Min. wiederholt nachgestellt, bis die Spontanspaltung der Öle, die besonders bei den hochgradig veränderten Sojaölen heftig war, auf ein geringeres und konstantes Maß abgesunken war. Dann erst wurden jeweils 0,5 ml Ferment einpipettiert und in kurzen Abständen kleine Mengen von 0,05 n NaOH zugegeben, um das pH konstant zu halten. In einem Parallelansatz wurde weiterhin die Spontanspaltung des Öles verfolgt.

Zur Ermittlung der Anfangsgeschwindigkeit der enzymatischen Spaltung wurde für Pankreaslipase eine Einwirkungszeit von 5 Min. gewählt, für Leberesterase von 25 Min. Beide Spaltungszeiten liegen noch im Bereich einer linearen Beziehung zwischen Enzymaktivität und Einwirkungszeit.

4c) Zur Bestimmung der Enzymaktivität innerhalb von 40 Std. (einem Zeitraum, der weit über den Bereich der Anfangsgeschwindigkeit hinaus ging), wurden die gleichen Ansätze zur Bestimmung der Enzymaktivität und der Spontanspaltung benützt, wie unter 4b) beschrieben, sie wurden jedoch in

Tabelle 3. Spaltbarkeit von unbehandeltem, bestrahltem, autoxydiertem, epoxydiertem und hydroxyliertem Sojaöl durch Leberesterase in vitro

Substrat	Durch die Enzymaktivität freigesetzte Mikroäquivalente Fettsäure		
	Spaltungszeit:		Gesamtmenge an Mikroäquivalenten Fettsäure im Spaltungsansatz*)
	25 Min.	40 Std.	
<i>unbehandeltes Sojaöl</i>	25	90	7480
<i>bestrahltes Sojaöl</i>			
Strahlendosis:			
2,5 Mrad	23	71	7040
10 Mrad	18	66	7280
50 Mrad	14	50	7080
<i>autoxydiertes Sojaöl</i>			
Std. m ³ Luft			
3 1,2	19	40	7240
10 4,0	18	35	
15 6,0	16	35	8340
20 8,0	15	35	
<i>epoxydiertes Sojaöl</i>			
Epoxydierung:			
6%	25	56	7090
12%	25	54	7290
25%	28	48	7050
60%	33	44	7560
<i>hydroxyliertes Sojaöl</i>			
Hydroxylierung:			
6%	22	85	7240
12%	16	84	6970
25%	22	80	7230
60%	8	75	6980

*) Errechnet aus der Verseifungszahl.

Erlenmeyerkolben im Brutschrank von 37 °C gehalten und im Abstand von mehreren Stunden durch Zugabe von 0,05 n NaOH erneut pH 9 eingestellt.

Zur Errechnung der Enzymaktivitäten wurde aus der während der angegebenen Spaltungszeit insgesamt benötigten Menge an Natronlauge die Mikroäquivalente Fettsäure bestimmt, die durch das Enzym freigesetzt worden war (in den Tabellen sind stets Mittelwerte von Doppelbestimmungen angegeben). Die Spontanspaltung der Öle wurde bei der Berechnung der Enzymaktivität substrahiert.

5. Bestimmung der Kennzahlen

Jodzahl: nach KAUFMANN (9), Epoxyzahl: nach KRULL (10), Verseifungszahl: DGF-Einheitsmethode (C – V 3 [53]).

Ergebnisse und Diskussion

In der Tabelle 1 sind die Kennzahlen der untersuchten Sojaöle wiedergegeben. Wir legten vor allem Wert auf die Jodzahl, da sie einen guten Eindruck über die Schwere des vorgenommenen Eingriffs vermittelt.

Das Ergebnis der Versuche über die enzymatische Spaltbarkeit ist in den Tabellen 2 und 3 zusammengefaßt. Die Spaltbarkeit der behandelten Sojaöle durch die Pankreaslipase ist vermindert, und zwar in steigendem Maße mit zunehmender Behandlungsintensität. Unter Berücksichtigung des auch im Kontrollversuche niedrigen Spaltungsgrades ist der Hemmeffekt jedoch nur unbedeutend. Dasselbe war in den Versuchen mit der Leberesterase der Fall, wobei zu berücksichtigen ist, daß dieses Enzym schon von Haus aus Triglyceride höherer Fettsäuren wesentlich schlechter spaltet als Pankreaslipase. Bei beiden Enzymen ist die Verschlechterung der Spaltung bei den autoxydierten Ölen am stärksten. Wir schließen daraus, daß die geringfügig verminderte enzymatische Spaltbarkeit der bestrahlten und autoxydierten Öle ursächlich für die verschlechterte Resorption nicht in Frage kommt, zumal wir dieselbe Hemmung der enzymatischen Spaltung auch bei den hydroxylierten und epoxydierten Sojaölen feststellten, deren Resorption gegenüber dem Ausgangsöl praktisch unverändert ist.

Zusammenfassung

Die Spaltung von bei 180° geblasenen, epoxydierten, hydroxylierten und bestrahltem Sojaöl durch hochgereinigte Präparate von Pankreaslipase und Leberesterase in vitro ist geringfügig vermindert. Dieser Befund gibt keine Erklärung für die verschlechterte Resorption der autoxydierten und bestrahlten Öle.

Schrifttum

1. KIECKEBUSCH, W., K. JAHR, G. CZOK, W. GRIEM, K.-H. BÄSSLER und K. LANG: Fette, Seifen und Anstrichmittel (z. Zt. im Druck). — 2. JAHR, K.: Inaug. Diss. (Mainz 1962). — 3. KIECKEBUSCH, W., K. JAHR, G. CZOK, E. DEGWITZ und K. LANG: Fette, Seifen und Anstrichmittel (z. Zt. im Druck). — 4. SCHREIBER, M. und E. S. NASSET: J. Appl. Physiol. **14**, 639 (1959). — 5. MONTY, K. J.: Federat. Proc. **19**, 1034 (1960). — 6. GALL, R. J., und F. P. GREENSPAN: Ind. Engng. Chem. **47**, 147 (1955). — 7. MARCHIS-MOUREEN, G., L. SARDA und P. DESNUELLE: Arch. Biochem. **83**, 309 (1959). — 8. CONNORS, W., A. PHILL, A. L. DOUNCE und E. STOTZ: J. Biol. Chem. **170**, 467 (1947). — 9. KAUFMANN, H. P.: DFG-Einheitsmethode C—V 11 b (53). — 10. KRULL, L.: Fette, Seifen und Anstrichmittel **61**, 223 (1959).

Anschrift der Verfasser:

Dr. E. DEGWITZ und Prof. Dr. K. LANG, Physiol.-Chem. Univ.-Institut 6500 Mainz

BUCHBESPRECHUNGEN

Entwicklungstendenzen der Ernährung. Herausgegeben vom Forschungsrat für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. Vortragstagung des Forschungsrates am 6. Dezember 1961 in Bonn. 82 Seiten mit 5 Abbildungen und 6 Tabellen (München 1962, BLV Verlagsgesellschaft). Preis: brosch. DM 9,80.

In sechs Vorträgen werden die Entwicklungstendenzen der Ernährung aus ernährungsphysiologischer, technologischer, marktwirtschaftlicher, hauswirtschaftlicher und landwirtschaftlicher Sicht abgehandelt. Man erkennt daraus die Vielseitigkeit der Problemstellungen, zugleich zeichnen sich die verschiedenartigen Fachwissenschaften ab, die sich damit befassen.

In der ernährungsphysiologischen Betrachtung erfolgt eine Bestandsaufnahme, ein Hinweis auf den Bedarf und in welcher Richtung sich der Bedarf entwickelt. Im technologischen Bericht wird ein Überblick über die verschiedenen Verfahren der Lebensmittel-