

Änderungen des Ascorbinsäuregehaltes von Leguminosen unter dem Einfluß von β - oder γ -Strahlung, 2. Mitt.

Von

M. Z. Barakat, M. F. Abdel Wahab und Y. M. Megahed

Aus der Biochemischen Abteilung der Fakultät für Veterinärmedizin der Universität Kairo und dem Radioisotopen-Zentrum, A. E. E., Kairo (V. A. R.)

Mit 9 Abbildungen

(Eingegangen am 2. Mai 1964)

Der Ascorbinsäuregehalt von fünf Leguminosen, nämlich *Vicia faba*, *Vigna sinensis*, *Phaseolus vulgaris*, *Trigonella foenum graecum* und *Lupinus termis*, wird angegeben. Die durchschnittliche Veränderung im Vitamin C-Gehalt der Samen während der Keimung wird aufgezeigt. Die Auswirkung von β -Strahlen, die kleine Mengen von radioaktivem $H_3^{32}PO_4$ aussenden, sowie die der γ -Strahlung von radioaktivem ^{131}I , ^{137}Cs oder ^{60}Co auf die Keimlinge wird beschrieben.

The ascorbic acid content of five sorts of leguminous plants, viz., *Vicia Faba*, *Vigna Sinensis*, *Phaseolus Vulgaris*, *Trigonella Foenum Graecum* and *Lupinus Termis* is given. The average variations in the vitamin C content of the seeds during germination are shown. The effects or β -irradiation emitted from small doses of radioactive $H_3^{32}PO_4$ as well as γ -irradiation of ^{131}I , ^{137}Cs or ^{60}Co on the seedlings are demonstrated.

Wenn man ionisierende Strahlen zur Desinfektion von Gemüsepflanzen anwendet, muß man auf die durch Strahlung mögliche Zersetzung von Nährstoffen, wie Vitaminen, achten. In einigen Gemüsen zeigt Vitamin C große Beständigkeit gegen ^{60}Co - γ -Strahlen¹. Während man eine Verringerung des Vitamin C-Gehaltes von Kartoffeln kennt,

¹ M. Kondo und H. Ogura, 3rd Japan. Confer. Radioisotopes 59/P-83 A-22.

bleibt der von Zwiebeln unverändert². Jedenfalls verursachen bestimmte Dosen von γ -Strahlen keine regelmäßige oder bedeutende Veränderung im Vitamin C-Gehalt von Kartoffeln³.

Daher scheint es wünschenswert, die Zersetzung von Vitamin C durch ionisierende Strahlung in verschiedenen Gemüsen zu untersuchen. Zuvor wurde über den Einfluß von β -Strahlen auf den Ascorbinsäuregehalt von *Vicia-faba*-Keimlingen berichtet⁴. Vitamin C wurde gewählt, weil es gegenüber Strahlung empfindlich und ein biologisch wichtiger Lebensmittelbestandteil ist.

Die folgende Abhandlung zeigt die Veränderung des Ascorbinsäuregehalts von fünf Leguminosensamenarten während der Keimung und die Wirkung von β - und γ -Strahlen kleiner Mengen bestimmter Radioisotope.

Experimenteller Teil

Bestrahlung der Samen: 100 g frische Samen von *Vicia faba* Giza I und II, *Vigna sinensis*, *Phaseolus vulgaris*, *Trigonella foenum graecum* oder *Lupinus termis* wurden mit 300 ml destill. H₂O getränkt, das 100 oder 200 μ C H₃³²PO₄ enthielt (spezif. Aktivität 1 mC pro mg ³²P). Nach 24 Stdn. wurden sie herausgenommen, einige Male in Leitungswasser, hierauf in destill. Wasser gewaschen und in Holzkästen ausgesät. Dann ließ man sie im Freien in der für sie günstigsten Zeit wachsen (für *Vigna sinensis* Februar—März oder Mai—August, die übrigen Oktober—November).

Für einen Zeitraum von 30 Tagen wurde der Ascorbinsäuregehalt der Keimlinge nach der N-Bromsuccinimid-methode⁵ bestimmt. Dafür wurden 10 g der Probe verwendet. Gleichzeitig machte man ein Kontrollexperiment, bei dem man die gleiche Verfahrensweise auf jede Art der Leguminosensamen anwandte. Es war nicht nötig, auch nichtaktives Phosphat hinzuzufügen, weil die Menge des aktiven Phosphats ziemlich gering war (100 oder 200 μ g ³²P). Phosphation störte die analytische Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes nicht.

Mengenmäßige Bestimmung der Strahlung: Die von jeder Samenart aufgenommene Radioaktivität wurde wie folgt bestimmt:

5 g der getränkten Samen wurden in 20 ml konz. HNO₃ digeriert. Die Lösung wurde mit 100 ml destill. H₂O verdünnt. Die Zählung wurde an einem 3 ml-Aliquot mittels einer Endfenster-G. M.-Röhre (1,4 mg/cm²) mit einem Eko-Scaler vorgenommen. Die prozentuelle Aufnahme von radioaktivem Phosphat für jede der Samenarten ergab sich wie folgt (Tab. 1):

² N. F. Lewis und P. B. Mathur, Internat. J. Appl. Radiation and Isotopes **14**, No. 9, 447 (1963).

³ T. Panalaks, O. Pelletier und J. A. Campbell, Food Res. **25**, No. 1, 33 (1960).

⁴ M. Z. Barakat, M. F. Abdel-Wahab und Sami A. El-Kinawi, Mh. Chem. **93**, 754 (1962).

⁵ M. Z. Barakat, M. F. Abdel Wahab und M. M. El-Sadr, Anal. Chem. **27**, 536 (1955).

Tabelle 1

Pflanze	β-Strahlung		γ-Strahlung	
	100 µg	200 µg	100 µg	200 µg
Vicia faba Giza I	19 µg ^{32}P %	14 µg ^{32}P %	0,48 µg ^{131}J %	0,41 µg ^{131}J %
Vicia faba Giza II	22 µg ^{32}P %	20,5 µg ^{32}P %	0,28 µg ^{131}J %	0,26 µg ^{131}J %
Vigna sinensis	4,8 µg ^{32}P %	3,6 µg ^{32}P %	3,50 µg ^{131}J %	2,80 µg ^{131}J %
Phaseolus vulgaris (Sp. Comentidea)	5 µg ^{32}P %	4 µg ^{32}P %	2,08 µg ^{131}J %	1,70 µg ^{131}J %
Trigonella foenum graecum	10,83 µg ^{32}P %	10,12 µg ^{32}P %	2,50 µg ^{131}J %	2,00 µg ^{131}J %
Lupinus termis	25,4 µg ^{32}P %	17,8 µg ^{32}P %	1,50 µg ^{131}J %	1,00 µg ^{131}J %

In gleicher Weise wurde jede der oben erwähnten Arten von Leguminosensamen mit radioaktivem Jod behandelt, und zwar mit Mengen von 1000 und 2000 µC von Na^{131}J als Quelle der internen Gammastrahlung. Die aufgenommene Menge radioaktiven Jods ist oben in Prozent angeführt. Selbst große Mengen NaJ störten die Methode zur Vitamin C-Bestimmung nicht. Daher war es bei den Kontrollversuchen nicht notwendig, nichtaktives NaJ zuzusetzen.

Ferner wurden ähnliche Experimente mit radioaktivem Cäsium in Mengen von 5000 und 10000 r mit $^{137}\text{CsCl}$ als Quelle externer Gammastrahlung durchgeführt. Außerdem wurde radioaktives Kobalt in steigenden Dosen verwendet, nämlich 1000, 5000, 10000, 15000, 20000 und 50000 r im ^{60}Co -Stäbchen.

Bestimmung des Vitamin C: 10 g frischer oder keimender Samen wurden in einen Meßzylinder gegeben und mit 20proz. Trichloressigsäure auf 50 ml aufgefüllt, homogenisiert und 5 Min. zentrifugiert (2000 U. p. M.). Zu 10 ml der überstehenden Lösung (entsprechend 2 g Samen) fügte man 2 ml einer 4proz. KJ-Lösung und 5 Tropfen 1proz. Stärkelösung hinzu. Unter ständigem Schütteln wurde 0,01proz. N-Bromsuccinimidlösung tropfenweise zugegeben, bis sich eine beständige Blaufärbung zeigte. Der Blindwert (0,09 ml 0,01proz. NBS) wurden vor der Berechnung von der zur Titration verwendeten Menge abgezogen. Die Titration wurde 3mal durchgeführt und der Durchschnittswert in jedem Fall angegeben. Der Vitamin C-Gehalt wurde in mg pro 100 g Trockengewicht der verschiedenen Samen berechnet. Jede Bestimmung wurde mit mehreren für den Versuch ausgesuchten Pflänzchen durchgeführt.

Ergebnisse

Die für jede Art der bestrahlten Leguminosensamen erhaltenen Ergebnisse und die der Kontrollen während der Keimung wurden in einer Zeichnung zusammengestellt. Die Abb. 1—6 zeigen der Reihe nach die Werte für Vicia faba Giza I und II, Vigna sinensis, Phaseolus vulgaris, Trigonella foenum graecum und Lupinus termis. Der Vitamin C-Gehalt ist in mg pro 100 g trockener Keimlinge angegeben.

Die Abb. 1—6 zeigen die durchschnittliche Veränderung im Vitamin C-Gehalt der bestrahlten Samen während der Keimung sowie der Kontrollen der getränkten Samen während einer Zeit von 30 Tagen. Die statistische

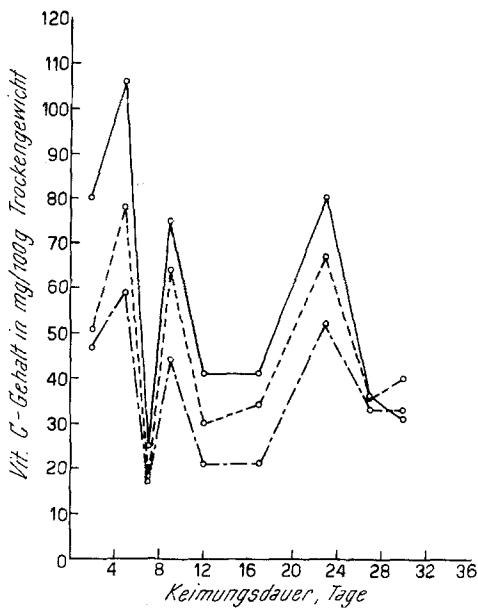


Abb. 1 a

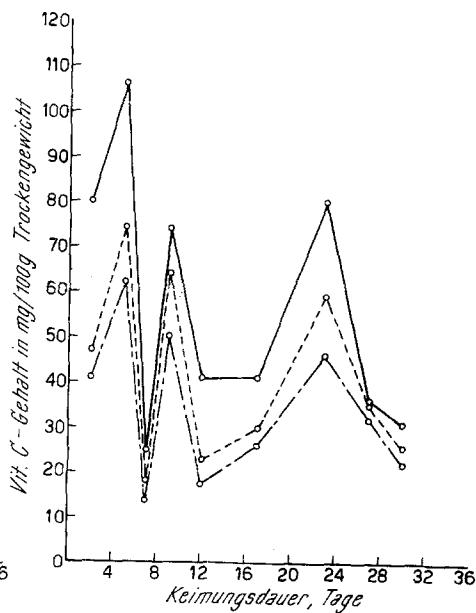


Abb. 1 b

Abb. 1 a und b. Veränderung im Vit. C-Gehalt (Vicia faba Giza I)*

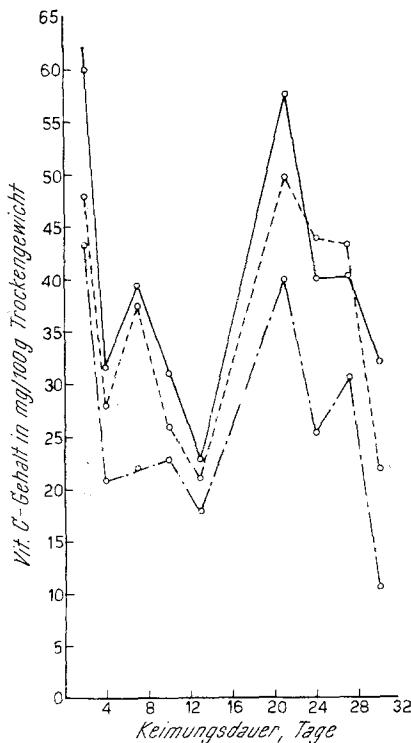
a) — unbestrahlte
- - bestrahlt mit 100 µC ^{32}P
- · - bestrahlt mit 200 µC ^{32}P b) — unbestrahlte
- - bestrahlt mit 1000 µC ^{131}I
- · - bestrahlt mit 2000 µC ^{131}I 

Abb. 2 a

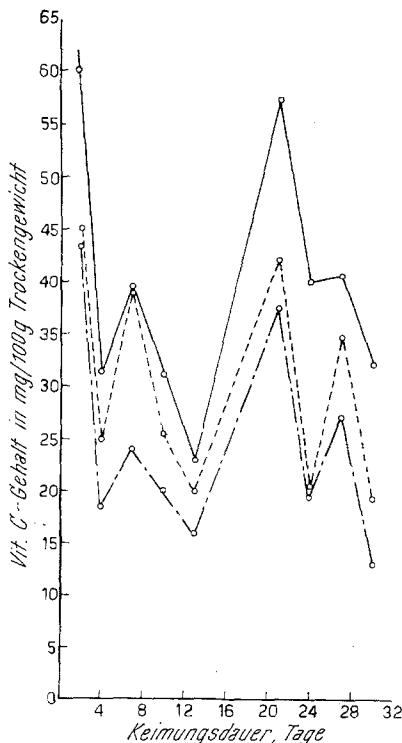


Abb. 2 b

Abb. 2 a und b. Veränderung im Vit. C-Gehalt (Vicia faba Giza II)

* Dieselbe Symbolik gilt für Abb. 2—6.

Analyse der Ergebnisse des Vitamin C-Gehaltes der Kontrolle und der bestrahlten Keimlinge, zeigt einen signifikanten Unterschied. Die maximale und die durchschnittliche Differenz der Vergleichs- und der bestrahlten Samen (in %) ist in Tab. 2 wie folgt zusammengestellt:

Tabelle 2. Auswirkung der β - und γ -Strahlung auf den Ascorbinsäuregehalt

Abb.	Pflanze	β -Strahlung, ^{32}P				γ -Strahlung, ^{131}I			
		maxim.	Differenz	mittl.	maxim.	Differenz	mittl.	1000 μC	2000 μC
		100 μC	200 μC	100 μC	200 μC	1000 μC	2000 μC	1000 μC	2000 μC
1	Vicia faba Giza I	25,93	44,13	19,41	35,51	29,78	40,63	23,55	33,47
2	Vicia faba Giza II	30,02	34,56	24,06	30,04	49,00	51,06	35,91	43,35
3	Vigna sinensis	32,97	38,73	31,32	37,74	20,60	52,83	19,02	50,45
4	Phaseolus vulgaris	45,58	50,76	42,54	47,52	49,02	52,01	35,69	50,10
5	Trigonella foenum graceum	46,63	52,92	35,23	41,90	46,69	53,33	33,39	41,08
6	Lupinus termis	31,39	35,99	29,81	43,90	29,78	36,19	27,79	34,08

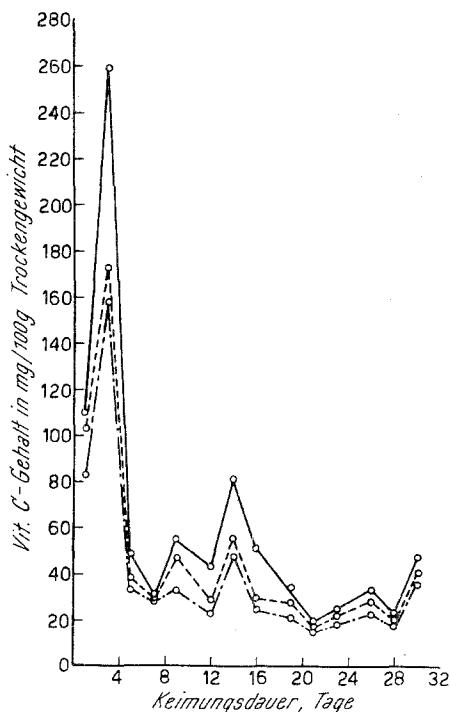


Abb. 3a

Abb. 3a und b. Veränderung im Vit. C-Gehalt (Vigna sinensis)

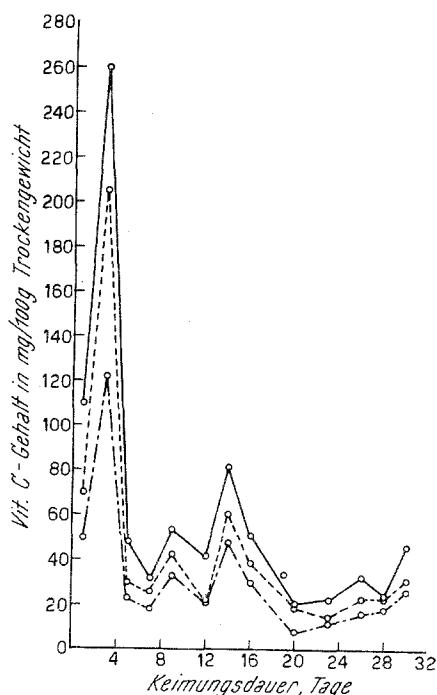


Abb. 3b

Der maximale Effekt der Strahlung erreicht im Falle der *Trigonella foenum graecum* 46,63%, wenn man 100 μC der von ^{32}P ausgesandten Strahlung verwendet, während der kleinste Effekt bei 9,36% liegt. Verwendet man doppelte Dosen von β -Strahlen (200 μC), steigt der maximale Effekt bis 52,92%, während das Minimum 16,91% beträgt.

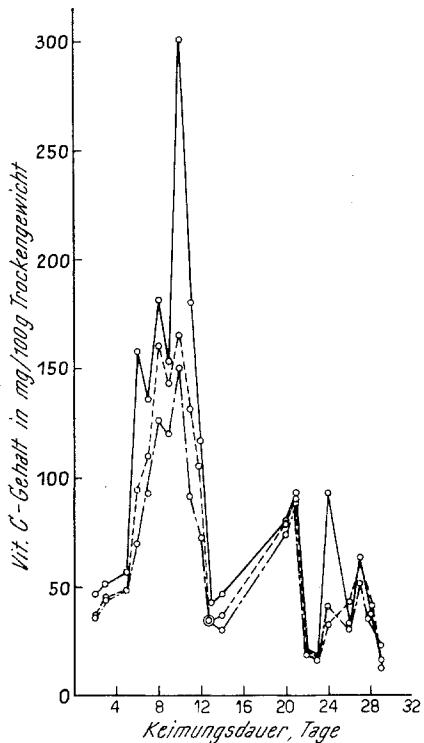


Abb. 4 a

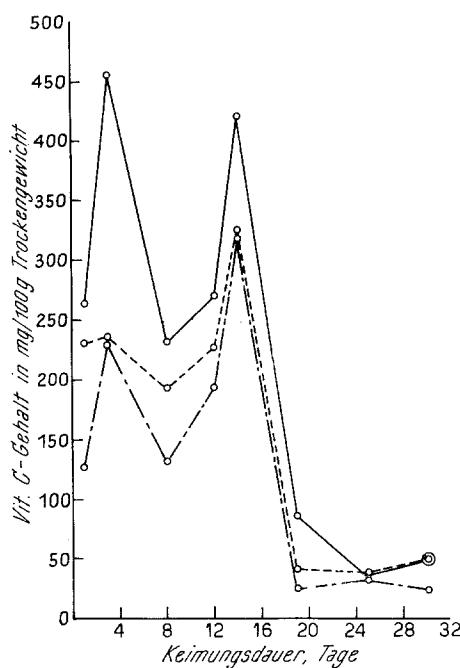
Abb. 4 a und b. Veränderung im Vit. C-Gehalt (*Phaseolus vulgaris*)

Abb. 4 b

γ -Strahlung von ^{131}J verursacht einen Verlust an Vitamin C von den bestrahlten Keimlingen gegenüber den Kontrollen. Das Maximum beträgt 49,02%, wenn man im Falle des *Phaseolus vulgaris* 1000 μC verwendet, das Minimum 12,55%. Doppelte Menge von γ -Strahlung (2000 μC ^{131}J) verursacht ein Maximum von 53,33% (bei der *Trigonella foenum graecum*), während das Minimum bei 13,88% Vitamin C-Verlust liegt.

In gleicher Weise führt γ -Strahlung (5000 r), die von ^{137}Cs ausgesendet wird, zu einem Verlust von maximal 46,23% im Falle der *Trigonella foenum graecum* (Fig. 7) und einem Minimum von 6,17%; bei doppelt so großen Dosen (10000 r) beträgt der maximale Verlust 56,25% mit einem Minimum von 13,32% im Falle des *Phaseolus vulgaris* (Fig. 8).

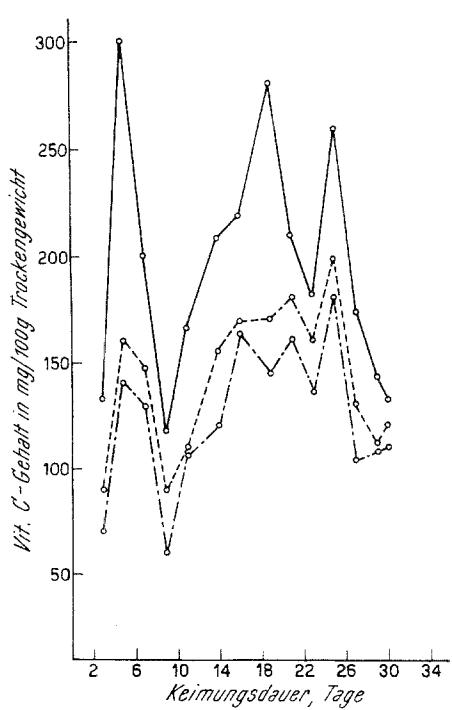


Abb. 5 a

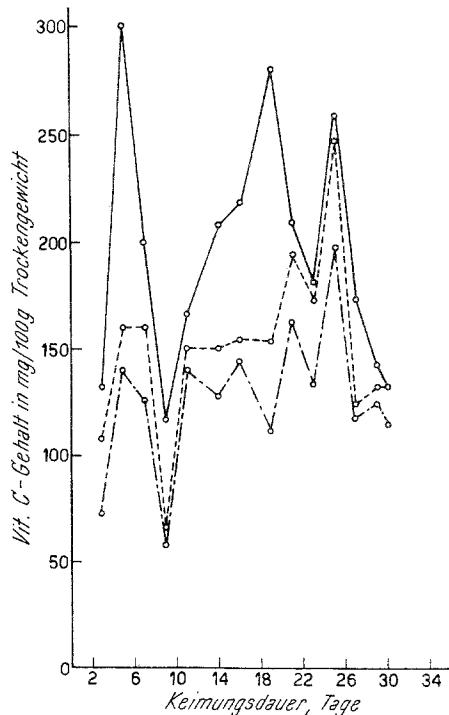


Abb. 5 b

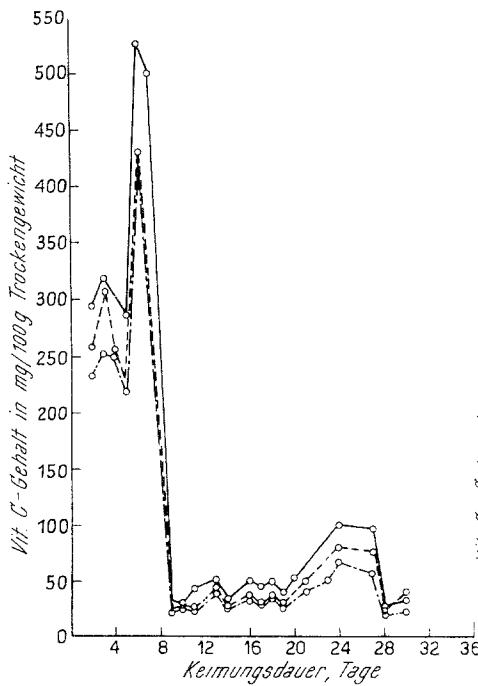
Abb. 5 a und b. Veränderung im Vit. C-Gehalt (*Trigonella foenum graecum*)

Abb. 6 a

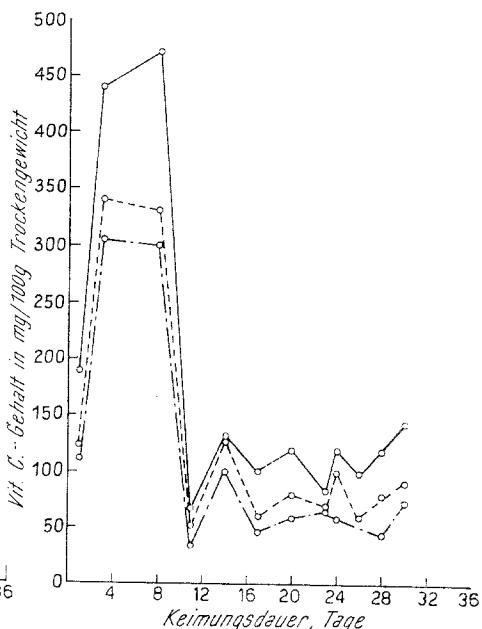


Abb. 6 b

Abb. 6 a und b. Veränderung im Vit. C-Gehalt (*Lupinus termis*)

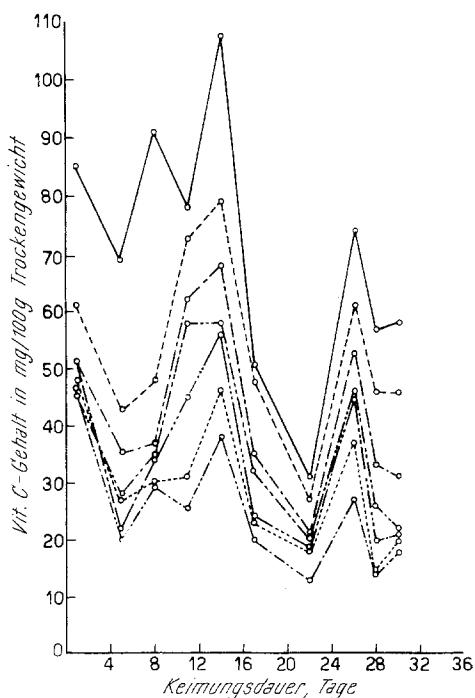
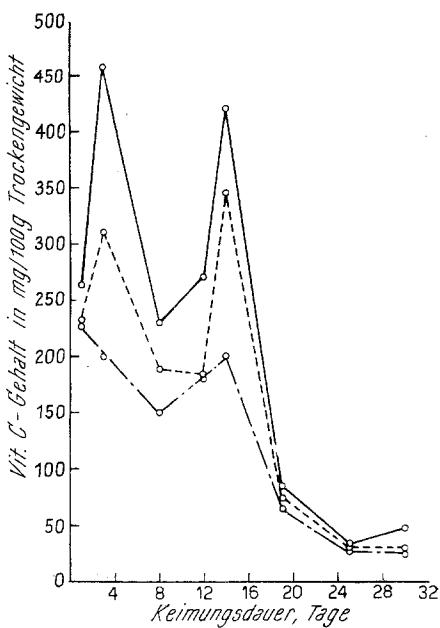
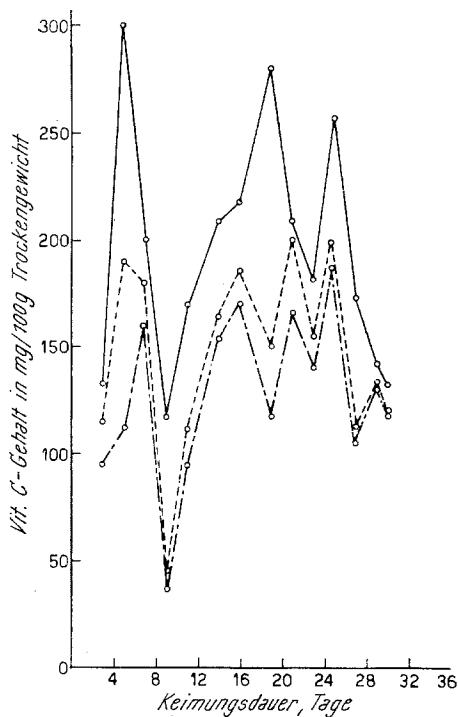


Abb. 9.

Das Maximum der verschiedenen Dosen (5000—50000 r) von γ -Strahlen (^{60}Co) erreicht 68,57% im Falle der *Trigonella foenum graecum*, wenn man 50000 r verwendet (Fig. 9); das Minimum beträgt 63,14%.

Diskussion

Im ganzen gesehen ist der Ascorbinsäuregehalt frischer Leguminosensamen im Vergleich zu dem der Keimlinge ziemlich gering. Das Vitamin wird während der Keimung reifer Samen aufgebaut und daher ist sein Anteil in gekeimten Samen höher.

Diese Arbeit hatte den Sinn, ein Bild vom Durchschnittsgehalt an Ascorbinsäure zu geben, den man durch kalte Extraktion mit 20proz. Trichloressigsäure aus den Keimlingen von fünf Leguminosarten erhält, von denen die einen vor der Aussaat einer Strahlung ausgesetzt wurden, die anderen nicht. Die Samen der verschiedenen Leguminosen, die für die Extraktion verwendet wurden, wurden zuerst der β -Strahlung kleiner Dosen von ^{32}P in Form von $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$ ausgesetzt. Die Strahlungsmenge, die noch keine schädliche Wirkung auf die Samen hat, wurde mit 2 μC pro Gramm frischer Samen festgestellt, wenn man 24 Stdn. bestrahlt. Der Vitamin C-Gehalt wurde auf mg pro 100 g Trockengewicht der fünf Sorten von Leguminosenteimlingen berechnet.

Je eine Abbildung zeigt für jede Keimlingsart die durchschnittliche Veränderung des Vitamin C-Gehaltes während der Keimungszeit. Die von den Kontroll- und den bestrahlten Pflanzen erhaltenen Durchschnittswerte differieren bei jeder Leguminosenart (vgl. Abb. 1—6). Bei bestimmten Abbildungen kann man drei Spitzen unterscheiden: Die erste beim fünften Tag, die zweite am 19. Tag und die dritte am 25. Tag der Keimungszeit (vgl. Abb. 5a und b). Entsprechend dem Zeitpunkt der Keimung kann man einen bemerkenswerten Zuwachs des Ascorbinsäuregehaltes feststellen.

In gleicher Weise verwendete man die fünf verschiedenen Sorten frischer Leguminosensamen, um das Vitamin C zu extrahieren, nachdem man die Samen einer γ -Strahlung ausgesetzt hatte, die kleine Mengen ^{131}I in Form von Na^{131}I oder ^{137}Cs in Form von $^{137}\text{CsCl}$ oder ^{60}Co aussenden. Es wurde eine korrespondierende Zeichnung für alle 5 Arten frischer Leguminosensamen angefertigt, die vorher mit γ -Strahlen behandelt wurden. Diese Zeichnung soll die durchschnittliche Veränderung im Ascorbinsäuregehalt während der Keimung zeigen.

Wenn man den Ascorbinsäuregehalt mit den Kontrollpflanzen vergleicht, ist es offensichtlich klar, daß entweder durch die β - und γ -Strahlung die Bildung von Ascorbinsäure während der Keimungszeit behindert oder ihre Zersetzung beschleunigt wird. Das stimmt mit einem früheren Bericht⁴ über die Auswirkung von β -Strahlung und den Er-

gebnissen anderer Forscher überein. Die unmittelbare Wirkung von γ -Strahlen ist ein Absinken des Ascorbinsäuregehaltes grüner Pflanzen⁶. Weiters sinkt die Menge des Ascorbinsäureextraktes von Kartoffeln mit wachsender Bestrahlung⁷. Außerdem führte Strahlung zu einer Zersetzung von Vitamin C in wäßriger Lösung¹ und in Früchten^{8, 9}. Größere Strahlungsmengen verursachen höhere Ascorbinsäureverluste¹⁰.

⁶ A. R. Cooke, Science [New York] **117**, 588 (1953).

⁷ S. L. Dallyn, R. L. Sawyer and D. J. Cotter, Nucleonics **13**, No. 4, 48 (1955).

⁸ I. D. Clarke, Internat. J. Appl. Radiation and Isotopes **6**, 175 (1959).

⁹ L. E. Brownell, Internat. J. Appl. Radiation and Isotopes **11**, No. 1, 44 (1961).

¹⁰ E. A. Asselbergs, W. E. Ferguson and K. F. Macqueen, Food Technol. **12**, No. 3, 156 (1958).