

Zur Bildung von Carbonylverbindungen aus gesättigten Fettsäuren unter der Wirkung von UV- sowie von ^{60}Co - γ -Strahlung

Von K. TÄUFEL und R. ZIMMERMANN

Mit 1 Abbildung

Herrn Prof. Dr. H. Bertsch zum 65. Geburtstage gewidmet

Inhaltsübersicht

Bei der UV- sowie bei der ^{60}Co - γ -Bestrahlung gesättigter Fettsäuren manifestiert sich ein geringer Anstieg der Peroxydzahl als Ausdruck einer beginnenden Oxydation, In sekundärer Reaktion entstehen — in Abhängigkeit von der Strahlendosis — verschiedenartige aliphatische Monoaldehyde sowie Malondialdehyd, wie durch eigene differenzierende Ausgestaltung der sog. Thiobarbitursäure-Reaktion erwiesen worden ist. Bestrahlung in Gegenwart von Sauerstoff sowie von Wasser (Radiolyse desselben) fördert die oxydativ-desmolytischen Prozesse; in Anwesenheit von Stickstoff werden dieselben weitgehend eingeschränkt. α -Tocopherol — nicht aber Tocopherolacetat — hemmt den Abbau der Fettsäuren zu Carbonylverbindungen.

Gegenstand intensiver Forschung sind zur Zeit die durch Einwirkung energiereicher Strahlung auf organische Substanz (Lebensmittel) sowie auf Organismen ausgelösten primären und sekundären chemischen Veränderungen. Man erstrebt — abgesehen von einer praktischen Anwendung (medizinische Probleme, Fragen der Lebensmitteltechnologie usw.) — durch reaktionsmäßige Aufklärung der ablaufenden Vorgänge, sich insbesondere Möglichkeiten für Maßnahmen zum Schutz der biologischen Substanz vor Strahlenschäden zu erschließen.

Nach der Literatur tritt bei Lebensmitteln ein brauchbarer Sterilisationseffekt im allgemeinen erst bei Dosen von 1 bis 2, sogar von 3 Millionen Röntgen und darüber ein¹⁾; demgegenüber liegt die letale Dosis bei Ganzkörperbestrahlung von Säugetieren viel niedriger; sie bewegt sich beim höheren Tier, z. B. bei der Maus, in der Höhe von etwa 1000 rep. Die durch die Strahleneinwirkung gebildeten Ionen bzw. Radikale — vor allem in Gegenwart von Wasser und Luft (Sauerstoff) — können zum Ausgangspunkt mannigfacher chemischer Umsetzungen werden, in deren Gefolge sich erhebliche Geschmacks-, Geruchs-, Farb-, Konsistenzänderungen usw. einstellen.

¹⁾ J. KUPRIANOFF, *Fleischwirtschaft* **11**, 177 (1959).

Die Wirkung ionisierender Strahlung auf Fette ist wiederholt untersucht worden, wobei γ - sowie Elektronenstrahlen in Dosen von 10^6 bis 10^7 rep. herangezogen worden sind. Im einzelnen wurden auf solche Bestrahlungseffekte geprüft Fettsäuren bzw. Fettsäureester²⁻⁶⁾, pflanzliche Öle⁷⁻¹⁰⁾, Fischöle⁷⁾, Schlachtfette⁸⁾¹¹⁻¹³⁾, Fleisch¹⁴⁾¹⁵⁾ und Butter⁸⁾¹⁶⁾.

Durch Bestrahlung in Gegenwart von Sauerstoff werden in der Fettsubstanz Peroxyde und Carbonylverbindungen gebildet, die zu organoleptisch abwertenden Veränderungen führen. Hinzu kommt, daß dadurch die Neigung zur Autoxydation bei anschließender Lagerung durch Verkürzung der „Induktionsperiode“ erhöht wird. Bei Dosen von weniger als 10^6 rep. sind im allgemeinen merkliche Veränderungen der Fette nicht feststellbar; sie sind erheblich reduziert, wenn die Behandlung im Vakuum bzw. unter Ausschluß von Sauerstoff erfolgt²⁾⁷⁾¹⁴⁾. Peroxyde bilden sich in zu erwartender Weise nach den Angaben des Schrifttums hauptsächlich aus den stärker ungesättigten Fettsäuren; sie werden jedoch in geringer Menge auch bei der Bestrahlung gesättigter Vertreter beobachtet²⁾⁵⁾. Ein signifikanter Unterschied zwischen strahlungsinduzierter und spontaner Autoxydation ist – nach Prüfungen an der Ölsäure – nicht feststellbar⁴⁾.

Neben der Autoxydation erfolgt durch Bestrahlung eine Isomerisierung unter Bildung von Transverbindungen¹⁷⁾¹⁸⁾. Fettbegleitstoffe (Vitamin E und A, Carotin usw.) werden zerstört, zugesetzte Antioxy-

²⁾ I. R. CHIPAULT, O. S. PRIVETT, G. R. MIZUNO, E. C. NICKELL u. W. O. LUNDBERG, *Ind. Engng. Chem.* **49**, 1713 (1957).

³⁾ L. R. DUGAN jr. u. P. W. LANDIS, *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **33**, 152 (1956).

⁴⁾ H. T. SLOVER u. L. R. DUGAN jr., *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **34**, 333 (1957).

⁵⁾ R. S. HANNAN u. J. W. BOAG, *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **29**, 163 (1952).

⁶⁾ B. H. POLISTER u. J. F. MEAD, *J. agric. Food Chem.* **2**, 199 (1954).

⁷⁾ A. ASTRACK, O. SORBYE, A. BRASCH u. W. HUBER, *Food Res.* **17**, 571 (1952).

⁸⁾ B. A. J. SEDLÁČEK, *Nahrung* **2**, 547 (1958).

⁹⁾ K. I. ZHURAVLEV, *Voprosi pitaniija* **16**, 60 (1957).

¹⁰⁾ A. LANG u. E. PROCTOR, *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **33**, 237 (1956).

¹¹⁾ G. EGIASAROW, *Mjasnaja Industrija, SSR* **30**, 51 (1959).

¹²⁾ M. SRIBNEY, U. I. LEWIS u. B. S. SCHWEIGERT, *J. agric. Food Chem.* **3**, 958 (1955).

¹³⁾ L. A. WITTING u. B. S. SCHWEIGERT, *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **35**, 413 (1958).

¹⁴⁾ H. S. GRONINGER, A. L. TAPPEL u. F. W. KNAPP, *Food Res.* **21**, 555 (1956).

¹⁵⁾ O. F. BATZER, M. SRIBNEY, D. M. DOTY u. B. S. SCHWEIGERT, *J. agric. Food Chem.* **5**, 701 (1957).

¹⁶⁾ R. S. HANNAN u. H. I. SHEPHERD, *Brit. J. Radiol.* **27**, 36 (1954).

¹⁷⁾ H. P. PAN, S. A. GOLDBLITH u. B. E. PROCTOR, *J. Amer. Oil Chemists' Soc.* **35**, 1 (1958).

¹⁸⁾ H. LÜCK u. H. KÜHN, *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **61**, 860 (1959); *Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch.* **110**, 430 (1959).

dantien zeigen nach Behandlung verringerte Wirksamkeit²⁾¹⁰⁾¹⁹⁾. Eine Toxizität von mit 10^6 rep. bestrahlten Fetten ist nach dem Tierversuch bisher nicht eindeutig gesichert.

Was die Wirkung ionisierender Strahlung auf biologische Substrate anlangt, so liegen mannigfache Befunde vor. Sie erstreben in erster Linie, die Veränderung der Lipidsubstanz in kausalen Zusammenhang mit den sich im Organismus manifestierenden Strahlenschäden zu bringen. So ist eine Gamma-Bestrahlung von Tieren z. B. mit signifikanten Verschiebungen im Lipidstoffwechsel verknüpft²⁰⁾²¹⁾. Eine Reihe von Versuchen befaßt sich mit der in vivo-Bildung von toxischen Fettperoxyden sowie anderen Peroxyden²²⁻²⁶⁾.

Nach Modellversuchen — vor allem mit ungesättigten Fettsäuren — werden proportional der durch Strahlung induzierten Lipidoxydation in den Mitochondrien die Succin- und die Cholinoxidase gehemmt²⁷⁾; bestrahlte Emulsionen ungesättigter Fettsäuren, z. B. Linolsäure-Lösungen vom pH 9,0, beeinträchtigen die Wirkung der Sulfhydrylenzyme; es ist eine rund 66proz. Lahmlegung der Succinoxidase bei Anwendung von 5000 rep. beobachtet worden²⁸⁾. Die Oxydationsprodukte ungesättigter Fettsäuren hemmen fernerhin die Glycolyse und die Atmung von Ascites-Tumor-Zellen²⁹⁾ sowie die Zellteilung bei *Chaetopterus pergamentaceus*²⁶⁾.

Vom Standpunkt der zitierten Literatur aus erscheint es geboten, weitere experimentelle Erfahrungen über den Effekt ionisierender Strahlung auf Lipide zu sammeln. Zu diesem Zweck ist in eigenen Modell-

¹⁹⁾ R. R. BECKER, H. C. KUNG, N. F. BARR, C. S. PEARSON u. C. G. KING, *Food Technol.* **10**, 61 (1956).

²⁰⁾ J. E. HEWITT u. T. L. HAYES, *Amer. J. Physiol.* **185**, 257 (1956), zit. n. *Zbl. ges. Radiol.* **56**, 113 (1957).

²¹⁾ C. ENTENMAN, R. A. NEVE, H. SUPPLEE u. C. A. OLMSTED, *Arch. Biochem. Biophysics* **59**, 97 (1955), zit. n. *Zbl. ges. Radiol.* **50**, 253 (1956).

²²⁾ R. LATARJET u. a., *Organic Peroxides in Radiobiology*, Pergamon Press London 1958.

²³⁾ Z. M. BACQ u. P. ALEXANDER, *Grundlagen der Strahlenbiologie*, G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1958.

²⁴⁾ V. I. HORGAN, J. ST. L. PHILPOT, B. W. PORTER u. D. B. ROODYN, *Biochem. J.* **67**, 551 (1957).

²⁵⁾ D. B. ROODYN u. J. S. L. PHILPOT, *Radiation Res.* **9**, 172 (1958). Abstr.

²⁶⁾ K. M. WILBUR, N. WOLFSON, C. B. KENASTON, A. OTTOLENGHI, M. E. GAULDEN u. F. BERNHEIM, *Exp. Cell Res.* **13**, 503 (1957).

²⁷⁾ A. OTTOLENGHI, F. BERNHEIM u. K. M. WILBUR, *Arch. Biochem. Biophysics* **56**, 157 (1955).

²⁸⁾ M. E. CLUBB u. E. D. WILLS, *Biochem. J.* **71**, 16 P (1959).

²⁹⁾ C. W. SHUSTER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* **90**, 423 (1955).

versuchen mit definierten gesättigten Fettsäuren mittels der 2-Thio-barbitursäure-Reaktion — gemäß eigener Arbeitsweise — die Bildung von Carbonylverbindungen durch $^{60}\text{Cobalt-}\gamma$ - sowie durch UV-Bestrahlung untersucht worden, worüber im folgenden berichtet wird.

1. Ergebnisse

Verhalten ausgewählter Fettsäuren bei gleich dosierter Bestrahlung

Die Befunde über das Verhalten einer Reihe von gesättigten Fettsäuren — es werden zur Bestrahlung 10^4 bis 10^5 rep. herangezogen — werden in Tab. 1 und 2 mitgeteilt. Danach werden — von wenigen Ausnahmen abgesehen — nach Tab. 1 durch 24stündige UV-Bestrahlung (Propion- bis Stearinsäure) in Anwesenheit von Sauerstoff bei 50° bzw. nach Tab. 2 durch $^{60}\text{Cobalt-}\gamma$ -Bestrahlung mit 1,5 Millionen rep. bei 20°C Carbonylverbindungen und Fettsäureperoxyde gebildet. Besonders bei der TBS-Reaktion — sowohl in der Ausführung bei 100° als auch bei 70°C — ergeben sich hinsichtlich der Färbungen signifikante Unterschiede zwischen nichtbestrahlten und bestrahlten Proben. Was die Intensität der Farbe betrifft, so zeigt die Arbeitsweise bei 70° wesentlich stärkere Effekte als die bei 100°C . Bemerkenswert ist weiterhin, daß die bestrahlten Proben der niederen, bei 20° flüssigen Fettsäuren erheblich intensiver mit TBS reagieren als die festen Vertreter (Tab. 2).

Tabelle 1
Thiobarbitursäure-Reaktion³⁰⁾ bei gesättigten Fettsäuren nach UV-Bestrahlung (24 Std./ 50°C)

Art der Fettsäure	Peroxidzahlen ml n/500 $\text{N}_2\text{S}_2\text{O}_3$ je 1 g Fettsäure		TBS-Reaktion ³¹⁾			
	urspr.	nach Bestrahlung	bei 100°C $E_{1\text{cm}}^{1\text{g}} 530\text{ m}\mu$		bei 70°C $E_{1\text{cm}}^{1\text{g}} 452\text{ m}\mu$	
			urspr.	nach Bestrahlung	urspr.	nach Bestrahlung
Propionsäure	0,4	3,3	0,00	0,02	0,38	0,69
Buttersäure	0,7	5,9	0,01	0,69	0,57	2,49
Valeriansäure	0,2	2,7	0,00	0,50	0,02	3,13
Capronsäure	0,2	2,8	0,00	1,01	0,05	3,51
Önanthsäure	0,2	2,8	0,00	0,43	0,12	2,96
Caprylsäure	0,3	2,8	0,00	0,33	0,07	2,76
Pelargonsäure	0,0	3,1	0,00	0,36	0,03	2,66
Caprinsäure	0,4	5,0	0,02	0,63	0,10	2,30
Palmitinsäure	0,4	3,9	0,00	0,08	0,01	1,04
Stearinsäure	0,7	1,5	0,01	0,22	0,01	0,96

³⁰⁾ Thiobarbitursäure wird abgekürzt zu TBS.

³¹⁾ Extraktionsmethode; vgl. Versuchsteil.

Tabelle 2
Thiobarbitursäure-Reaktion bei gesättigten Fettsäuren nach
 $^{60}\text{Co-}\gamma$ -Bestrahlung (etwa 1,5 Mill. rep.; 20 °C)

Art der Fettsäure	Peroxydzahlen ml n/500 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ je 1 g Fettsäure		TBS-Reaktion ³¹⁾			
	urspr.	nach Bestrahlung	bei 100 °C		bei 70 °C	
			urspr.	nach Bestrahlung	urspr.	nach Bestrahlung
Essigsäure	0,5	0,3	0,00	0,00	—	—
Propionsäure	0,4	0,4	0,01	0,01	—	—
Buttersäure	0,7	1,3	0,01	0,28	0,05	2,81
Valeriansäure	0,2	2,1	0,00	0,29	0,02	2,79
Capronsäure	0,2	3,7	0,00	0,27	0,05	2,84
Önanthsäure	0,2	4,1	0,01	0,22	0,12	2,34
Caprylsäure	0,3	1,0	0,00	0,03	0,07	1,09
Pelargonsäure	0,0	1,4	0,00	0,02	0,03	0,78
Caprinsäure	0,4	0,9	0,02	0,07	0,10	0,75
Palmitinsäure	0,4	1,2	0,01	0,01	0,01	0,15
Stearinsäure	0,7	1,4	0,01	0,04	0,01	0,27

Die durch Strahlung induzierte Bildung von Malondialdehyd – Absorptionsmaximum bei 530 $m\mu$ – läßt nach dem positiven Ausfall der TBS-Reaktion bei Buttersäure sowie den höheren Fettsäuren und dem praktisch negativen Verhalten von Propion- bzw. Essigsäure einen fast grundsätzlich zu nennenden Unterschied erkennen, der zu weiterer Bearbeitung anregt.

Die durch Strahlung provozierte Autoxydation der gesättigten Fettsäuren kommt auch in dem wenngleich geringen Anstieg der Peroxydzahlen zum Ausdruck; die nach Tab. 1 und 2 ermittelten Befunde stehen mit den Angaben des Schrifttums im Einklang.

Verhalten von Butter- und Palmitinsäure bei variierter Intensität der Bestrahlung

Nach den Ergebnissen gemäß Tab. 3 ergibt sich bereits nach Bestrahlung mit weniger als 10⁴ rep. ein Anstieg der auf aliphatische Aldehyde zurückzuführenden Extinktion bei 452 $m\mu$; er steht in annähernd linearem Zusammenhang mit der Bestrah-

Tabelle 3
Thiobarbitursäure-Reaktion bei
Buttersäure nach variierter $^{60}\text{Co-}\gamma$ -Bestrahlung

Dosis rep.	TBS-Reaktion ³²⁾	
	bei 100 °C $E_{1\text{cm}}^{1\text{g}} 530\text{ }m\mu$	bei 70 °C $E_{1\text{cm}}^{1\text{g}} 452\text{ }m\mu$
0	0,01	0,10
6400	0,01	0,15
38500	0,02	0,33
231000	0,06	1,40

³²⁾ Direkte Methode; vgl. Versuchsteil.

lungsdosis. Entsprechendes gilt nach Tab. 4 für die wäßrige Palmitatlösung (Dosen von 10^4 bis 10^5 rep.). Im Gegensatz zu den Angaben der Literatur ist demzufolge bereits bei Strahlendosen wesentlich unter 10^6 rep. mit der Bildung von Carbonylverbindungen zu rechnen.

Tabelle 4
Thiobarbitursäure-Reaktion bei wäßriger 2,5proz. Palmitatlösung nach variierter ^{60}Co - γ -Bestrahlung

Dosis rep.	TBS-Reaktion bei 70 °C $E_{1\text{cm}}^{1\text{g}} 452\text{ m}\mu$
0	0,76
28 500	1,21
57 000	1,45
85 550	2,03
114 000	2,19

Erwähnt sei zusätzlich, daß bei Heranziehung von UV-Strahlung sich das grundsätzlich gleiche Ergebnis einstellt.

Verhalten von Buttersäure in wäßriger Lösung bei der Bestrahlung

An Hand der für diesbezügliche Versuche gut geeigneten Buttersäure ist zur Ergänzung der Vorstellungen der Einfluß von Wasser unter Heranziehung der eigenen Arbeitsweise der TBS-Reaktion studiert worden. Bei UV- wie bei ^{60}Co - γ -Bestrahlung (Wassergehalt 0–95%) ergibt sich nach Abb. 1 sowie Tab. 5 – etwa gleichlaufend mit der Konzentration – ein recht

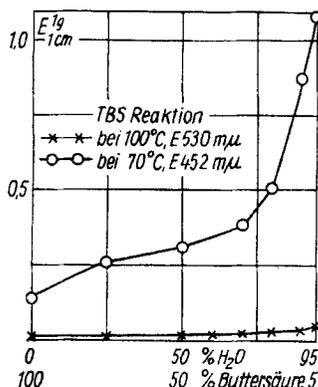


Abb. 1. Thiobarbitursäure-Reaktion bei Buttersäure mit unterschiedlichem Wassergehalt nach UV-Bestrahlung (2 Std./30 °C)

Tabelle 5
Thiobarbitursäure-Reaktion bei Buttersäure mit unterschiedlichem Wassergehalt nach ^{60}Co - γ -Bestrahlung (etwa 38 500 rep.)

Zusammensetzung d. Probe		TBS-Reaktion bei 70 °C ³³⁾ $E_{1\text{cm}}^{1\text{g}} 452\text{ m}\mu$	
Buttersäure %	Wasser %	ursprünglich	n. Bestrahlg.
100	0	0,02	0,05
75	25	0,04	0,22
50	50	0,06	0,35
25	75	0,07	0,92
5	95	0,08	1,87

beträchtlicher Anstieg in der Menge der produzierten Carbonylverbindungen; ergänzend sei bemerkt, daß die Intensität der Farbgebung auch bei der TBS-Reaktion bei 100° mit steigendem Wassergehalt zunimmt. Diese Befunde beweisen einmal mehr, daß bei strahleninduzierten chemischen Prozessen die Radiolyse des Wassers³⁴⁾ mit den dabei ge-

³³⁾ Extraktionsmethode.

³⁴⁾ H. Lück, Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 55, 81, 135 (1959).

bildeten reduzierend bzw. oxydierend wirkenden Umsetzungsprodukten von grundsätzlicher Bedeutung ist. Man muß also bei Bestrahlungsversuchen streng zwischen wasserfreiem und wasserhaltigem Substrat unterscheiden.

Verhalten von wäßrigen Lösungen von Butter- sowie Palmitinsäure in Sauerstoff- bzw. Stickstoffatmosphäre

Einen approximativ zahlenmäßigen Überblick über den Einfluß der Gasatmosphäre auf die induzierten Umsetzungen vermitteln Tab. 6 und 7.

In zu erwartender Weise erfolgt in Stickstoffatmosphäre praktisch kein oxydativ-desmolytischer Umsatz

— trotz der Gegenwart von Wasser — ein Hinweis dafür, daß bei den durch Radiolyse desselben ausgelösten Sekundärprozessen der Sauerstoff beteiligt sein dürfte. Daß der Sauerstoff bei den hier zu betrachtenden Umsetzungen den limitierenden Faktor darstellt, ergibt sich unter anderem aus folgendem Befund: Wenn während der Bestrahlung eine zusätzliche Belüftung nicht erfolgt, dann ist der im Substrat gelöste Sauerstoff bald aufgebraucht, und die autoxydative Umsetzung kommt zum Stillstand bzw. wird in andre Bahnen gelenkt.

Tabelle 6

Thiobarbitursäure-Reaktion bei 5proz. wäßriger Buttersäure- bzw. 2,5proz. wäßriger Palmitat-Lösung nach UV-Bestrahlung in Stickstoff- bzw. Sauerstoff-Atmosphäre

Probe, gesättigt mit N ₂ bzw. O ₂	Bestrahlungszeit ³⁵⁾ Std.	TBS-Reaktion bei 70 °C ³⁶⁾ E _{1 cm} ^{1 g} 452 mμ	
		Buttersäure	Palmitat
N ₂	0	0,09	0,70
N ₂	2	0,09	0,44
N ₂	4	0,10	0,35
O ₂	0	0,10	0,64
O ₂	2	0,78	1,11
O ₂	4	2,28	1,85

Tabelle 7

Thiobarbitursäure-Reaktion von 2,5proz. wäßriger Palmitat-Lösung nach ⁶⁰Co-γ-Bestrahlung in Stickstoff- bzw. Sauerstoff-Atmosphäre

Bestrahlung in N ₂ - bzw. O ₂ -Atmosphäre	Dosis rep.	TBS-Reaktion bei 70 °C ³⁷⁾ E _{1 cm} ^{1 g} 452 mμ
N ₂	0	0,85
N ₂	57000	0,93
N ₂	114000	0,74
O ₂	0	0,78
O ₂	57000	1,45
O ₂	114000	2,19

³⁵⁾ In 25-ml-Glaskölbchen bei 45–55 °C.

³⁶⁾ Direkte Methode.

³⁷⁾ Direkte Methode; Palmitinsäure durch Filtration abgetrennt; Filter vorher mit TBS-Reagenz ausgekocht.

Verhalten von Buttersäure in Gegenwart von Tocopherol bzw. seinem Acetat

Es ist theoretisch wie praktisch von gleich großem Interesse, bei den zu erörternden strahleninduzierten Umsetzungen das Verhalten von Fettantioxydantien kennenzulernen. Bei den durchgeführten Modellver-

Tabelle 8
Thiobarbitursäure-Reaktion bei Buttersäure nach UV-Bestrahlung (4 Std./30 °C) in Gegenwart von α -Tocopherol)

Konzentration an α -Tocopherol Mol/l	TBS-Reaktion bei 70 °C ³³)	
	$E_{1\text{cm}}^{1\text{g}}$ ursprünglich	$E_{1\text{cm}}^{1\text{g}}$ 452 m μ n. Bestrahlung
0,01	0,03	0,09
0,001	0,05	0,45
0,0001	0,04	0,41
0,00001	0,04	0,40
kein Zusatz	0,05	0,45

suchen werden α -Tocopherol sowie sein Acetat in den in Betracht kommenden Konzentrationen eingesetzt; über die Ergebnisse unterrichten Tab. 8 und 9. Danach schränkt α -Tocopherol bei Buttersäure sowohl bei UV- wie bei ^{60}Co - γ -Bestrahlung die Carbonylbildung in Abhängigkeit

Tabelle 9
Thiobarbitursäure-Reaktion bei Buttersäure nach ^{60}Co - γ -Bestrahlung (etwa 38500 rep.) in Gegenwart von α -Tocopherol bzw. α -Tocopherolacetat

Konzentration an α -Tocopherol bzw. α -Tocopherolacetat Mol/l	TBS-Reaktion bei 70 °C ³³)			
	$E_{1\text{cm}}^{1\text{g}}$ 452 m μ Versuch mit α -Tocopherol		$E_{1\text{cm}}^{1\text{g}}$ 452 m μ Versuch mit α -Tocopherolacetat	
	urspr.	n. Bestrahlung	urspr.	n. Bestrahlung
0,01	0,04	0,04	0,07	0,16
0,001	0,04	0,04	0,07	0,18
0,0001	0,04	0,12	0,08	0,18
0,00001	0,04	0,14	0,08	0,16
kein Zusatz	0,04	0,14	0,07	0,16

von der Konzentration ein. Demgegenüber ist nach Tab. 9 das Tocopherolacetat — wie man dies von in vitro-Versuchen zur Fettautoxydation kennt — praktisch ohne Effekt. Die Prozesse von spontaner und strahleninduzierter Autoxydation dürften somit verwandte Züge tragen.

Zur Quantität der gebildeten Carbonylverbindungen

Die Frage nach der absoluten Menge der durch Bestrahlung der gesättigten Fettsäuren gebildeten Carbonylverbindungen kann mittels der TBS-Reaktion zunächst nur summarisch, aber nicht differenzierend beantwortet werden, und zwar deshalb, weil die Reaktionsprodukte im

einzelnen noch nicht identifiziert worden sind. Die vorliegenden Befunde³⁸⁾ sprechen dafür, daß bei der TBS-Reaktion bei 70° vermutlich n-Alkanale, 2-Alkenale und 2,4-Alkaldienale (452 m μ) erfaßt werden; bei Durchführung der Farbreaktion bei 100° äußert sich vor allem die Anwesenheit von Acrolein, Croton- und Acetaldehyd sowie von 2,4-Heptadienal und Succindialdehyd (496 m μ); die Bande bei 530 m μ geht auf Malon- und Succindialdehyd sowie 2,4-Heptadienal zurück.

Im Falle der Buttersäure ist anzunehmen, daß sich vorwiegend Propionaldehyd bildet. An Hand einer Eichkurve wird für eine Lösung von etwa 10⁻⁵ Mol Propionaldehyd eine Extinktion von 1,0 ermittelt; legt man dies zugrunde, so erhält man die Ergebnisse gemäß Tab. 10.

Tabelle 10
Menge der durch Bestrahlung von Fettsäuren bzw. Ölen gebildeten Carbonylverbindungen

Art des Substrates	Bestrahlung		Carbonylgehalt Mol/kg	Bemerkung
	Art	Dosis		
Buttersäure, 5proz. wäßrige Lsg.	⁶⁰ Co- γ -Strahlung	4 · 10 ⁴ rep.	1,8 · 10 ⁻² (als Propionaldehyd)	vgl. Tab. 5
Buttersäure, 5proz. wäßrige Lsg.	UV-Strahlung	1,6 · 10 ⁷ erg/ml ³⁹⁾	1,2 · 10 ⁻² (als Propionaldehyd)	vgl. Abb. 1
Methylpalmitat	⁶⁰ Co- γ - od. Elek- tronen-Strah- lung	2 · 10 ⁶ rep.	0,6 · 10 ⁻²	nach CHIPAULT ²⁾ u. a.
Pflanzliche Öle	Elektronen- Strahlung	2 · 10 ⁶ rep.	0,04 · 10 ⁻² (als Heptaldehyd)	nach LANG u. PROCTOR ¹⁰⁾

In Tab. 10 sind den 2 selbst ermittelten Werten 2 der Literatur entnommene Angaben über den Gehalt von bestrahlten Fetten an Carbonylverbindungen gegenübergestellt. Daraus ist ersichtlich, daß deren Menge — auf gleiche Strahlungsmengen bezogen — durch ⁶⁰Co- γ -Bestrahlung bei Buttersäure rund 100mal größer ist als z. B. bei Methylpalmitat. Die Wirkung der benutzten UV-Lampe mit ihrer relativ schwachen Strahlung ist — wie aus Tab. 10 hervorgeht — größenordnungsmäßig mit dem Effekt bei der ⁶⁰Co- γ -Strahlung etwa gleichzusetzen.

Zusammenfassend ist aus den mitgeteilten Ergebnissen abzuleiten, daß bei UV- wie bei ⁶⁰Co- γ -Bestrahlung gesättigter Fettsäuren in Abhängigkeit von der Strahlendosis neben zumeist geringen Mengen an Peroxyden — wohl sekundär durch Umsatz derselben — Carbonylverbindungen verschiedener Art gebildet werden.

³⁸⁾ K. TÄUFEL u. R. ZIMMERMANN, Fette, Seifen, Anstrichmittel **63**, 226 (1961).

³⁹⁾ Gemessen an Hand der Hydrolyse von Monochloressigsäure.

Dieser Prozeß ist in Abwesenheit von Sauerstoff weitgehend eingeschränkt, bei Bestrahlung in der wäßrigen Lösung der Fettsäuren — durch Radiolyse des Wassers — wesentlich gesteigert. Hinsichtlich der summarisch ermittelten Erzeugung von Carbonylverbindungen sind UV- und γ -Strahlung von etwa gleicher Wirkung. Die TBS-Reaktion in der Ausführung bei 70 °C erweist sich als eine recht geeignete Methode zur Ermittlung der aus Fettsäuren bzw. Fetten gebildeten Carbonylverbindungen.

2. Beschreibung der Versuche

Untersuchungsmaterial

Bei den herangezogenen Fettsäuren handelt es sich um Originalpräparate, die durch Destillation in Stickstoffatmosphäre einer zusätzlichen Reinigung unterworfen worden sind. Die Jodzahlen (WJZ) liegen praktisch bei Null. Die wäßrige Lösung von Kaliumpalmitat (2,5% in bezug auf die eingesetzte Palmitinsäure) wird durch schwaches Erwärmen der Säure mit der äquivalenten Menge an 0,2 n-Kaliumhydroxyldlösung hergestellt und durch vorsichtige Zugabe von 0,1 n-Salzsäure auf $p_H \sim 9,0$ gebracht. Die Proben werden erforderlichenfalls mit Sauerstoff (Stahlflasche) durch Einleiten gesättigt.

Bei den Versuchen in Stickstoffatmosphäre werden die Substrate durch wiederholtes Evakuieren und Einleiten von Stickstoff vom Sauerstoff befreit. Zur Verwendung gelangt Reinstickstoff (VEB Berliner Glühlampenwerk), der zur Entfernung letzter Spuren von Sauerstoff nach den Angaben von MEYER und RONGE⁴⁰⁾ über eine Säule mit fein verteiltem erhitztem Kupfer geleitet wird.

UV-Bestrahlung

Die Bestrahlung der niederen (bei Zimmertemp.) flüssigen Fettsäuren — einschl. der wäßrigen Lösungen von Buttersäure sowie von Palmitat — erfolgt in geschlossenen Quarzküvetten mittels einer Quecksilberlampe; die höheren Fettsäuren werden in offener PETRI-Schale bestrahlt.

Um ein approximatives Maß für die induzierte Energie zu bekommen, wird die Strahlungsleistung der UV-Lampe nach einer von E. RUDBERG⁴¹⁾ angegebenen und von H. LÜCK und H. KÜHN⁴²⁾ beschriebenen Methode aus Daten bei der Hydrolyse einer 0,5 n-wäßrigen Lösung von Monochloressigsäure bestimmt. Diese photochemische Reaktion erfaßt nur UV-Licht und ist nach E. RUDBERG ein 1-Quantenprozeß, d. h. 1 Mol Lichtquanten erzeugt 1 Mol Chlorwasserstoff; strenggenommen trifft dies allerdings nur für die Wellenlänge 2537 Å zu.

Man bestrahlt die Lösungen von Monochloressigsäure unter gleichen Bedingungen wie das Untersuchungssubstrat in den gleichen Quarzküvetten verschieden lange Zeiten. In 5 ml der entnommenen Probe ermittelt man nach Neutralisierung mit Natronlauge das gebildete Natriumchlorid nach MOHR; bei 60minütiger Bestrahlung werden hierzu 0,08 ml 0,1 n-Silbernitratlösung benötigt; dies entspricht $0,8 \cdot 10^{-5}$ Mol Chlorwasserstoff.

⁴⁰⁾ F. R. MEYER u. G. RONGE, Angew. Chem. **52**, 637 (1939).

⁴¹⁾ E. RUDBERG, Z. Physik **24**, 247 (1924).

⁴²⁾ H. LÜCK u. H. KÜHN, Milchwissenschaft **13**, 460 (1958).

Die Energie von 1 Mol UV-Lichtquanten wird auf folgende Weise berechnet:

$$E = \frac{N_L \cdot h \cdot c}{\lambda} = 4,9 \cdot 10^{12} \text{ erg.}$$

Es bedeuten: E = Energie (erg)

N = LOSCHMIDTSche Zahl ($6,28 \cdot 10^{23}$)

h = PLANCKSches Wirkungsquantum ($6,63 \cdot 10^{-27}$ erg sec)

λ = Wellenlänge des eingestrahnten Lichts (cm); in diesem Fall vereinfacht zu 2537 Å angenommen,

c = Lichtgeschwindigkeit ($3 \cdot 10^{10}$ cm/sec.)

Die je 1 ml Probe und je 1 Stunde eingestrahelte Energie ergibt sich somit zu:

$$\frac{4,9 \cdot 10^{12} \cdot 0,8 \cdot 10^{-5}}{5} = 0,79 \cdot 10^1 \text{ erg} \sim 0,2 \text{ cal.}$$

Gamma-Bestrahlung

Es wird die $^{60}\text{Cobalt-}\gamma$ -Strahlung einer im Institut für Medizin und Biologie in Berlin-Buch der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin vorhandenen sog. Cobalt-Kanone verwendet⁴³⁾.

Die Proben sind in Glasgefäßen enthalten (15×70 mm; Glasschliffstopfen; Inhalt 6–7 ml). Jeweils 3 Proben werden gleichzeitig bestrahlt, wobei die Gefäße mittels eines Kunststoffbehälters derart an die Strahlenquelle herangebracht werden, daß der mittlere Abstand des Substrates davon 6,5 cm beträgt.

Die Dosisleistung der $^{60}\text{Cobalt-}\gamma$ -Strahlung beläuft sich bei den in verschiedenen Zeitabschnitten durchgeführten Untersuchungen auf etwa 1280 bzw. 1960 rep./Min.

Die analytische Untersuchung der Proben erfolgt jeweils etwa 24 Stunden nach der Bestrahlung.

Durchführung der Analysen

Wie bereits mitgeteilt, entstehen bei der Autoxydation von Fettsäuren und Fetten vor allem Alkanale und 2-Alkenale sowie Malondialdehyd⁴⁴⁾, Verbindungen, die sich mit der TBS-Reaktion erfassen lassen. Diese Aldehyde liefern beim Erhitzen mit 2-Thiobarbitursäure (0,36proz.) im System Eisessig/Wasser (1:1) bei 70 bzw. bei 100° eine charakteristische Gelb- bzw. Rosafärbung mit den Absorptionsmaxima bei 452 bzw. 530 m μ ⁴⁵⁾.

Bei der sog. direkten Methode⁴⁶⁾ werden 5 ml der eisessigsäuren 0,72proz. TBS-Lösung mit 5 ml des wäßrigen Substrates unmittelbar zur Reaktion gebracht (30 Min.).

Bei der sog. Extraktionsmethode⁴⁶⁾ wird das Substrat (1 g, bei niedrigem Aldehydgehalt 3 g) in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 10 ml des TBS-Reagenzes

⁴³⁾ Herrn Dr. R. HUBER vom Institut für Medizin und Biologie — Klinische Strahlenbiologie — danken wir verbindlichst für seine aktive Mitwirkung bei der Durchführung der Versuche auch an dieser Stelle.

⁴⁴⁾ K. TÄUFEL u. R. ZIMMERMANN, Ernährungsforsch. **4**, 325 (1959).

⁴⁵⁾ K. TÄUFEL u. R. ZIMMERMANN, Ernährungsforsch. **5**, 104 (1960); Naturwiss. **47**, 133 (1960); Fette, Seifen, Anstrichmittel **63**, 226 (1961).

⁴⁶⁾ R. ZIMMERMANN, Über Chemismus und analytische Anwendung der Farbreaktionen von 2-Thiobarbitursäure mit Carbonylverbindungen. Dissertation Humboldt-Universität, Berlin 1960; Seiten 57 bzw. 59.

(0,36proz.) versetzt. Man schüttelt 4 Minuten und zentrifugiert bis zur vollständigen Entmischung. 7 ml der wäßrigen Phase werden 30 Minuten bei 70 bzw. 100° gehalten.

Die Messung der Farbdichte erfolgt im Spektralphotometer bei 452 bzw. 530 m μ ; die Färbung ist bei Lichtausschluß innerhalb 20–300 Minuten praktisch stabil.

Die Peroxydzahl wird jodometrisch nach der von FRANZKE⁴⁷⁾ abgewandelten Arbeitsweise nach F. B. SULLY ermittelt.

⁴⁷⁾ CL. FRANZKE, Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **103**, 108 (1956).

Potsdam-Rehbrücke, Institut für Ernährung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin.

Bei der Redaktion eingegangen am 1. September 1961.