

# Durch $\beta$ -Strahlen bewirkte Änderung des Ascorbinsäuregehaltes von Samen der *Vicia faba*, 1. Mitt.

Von

M. Z. Barakat, M. F. Abdel-Wahab und Sami A. El-Kinawi

Aus dem Biochemistry Department, Faculty of Veterinary Medicine, Cairo University und aus The Radioisotope Centre, A. E. E., Cairo, UAR

Mit 4 Abbildungen

(Eingegangen am 27. Januar 1962)

Der Ascorbinsäuregehalt der trockenen Samen dreier *Vicia faba*-Arten wurde bestimmt. Die durchschnittliche Änderung des Vitamin C-Gehaltes der Samen während der Keimung und die Wirkung der von kleinen Mengen  $^{32}\text{P}$ -Phosphat abgegebenen  $\beta$ -Strahlung auf die Keimlinge wurde untersucht.

Die Entdeckung, daß Röntgenstrahlen Mikroorganismen in Nahrungsmitteln zu zerstören vermögen, hat die Frage aufgeworfen, ob ionisierende Strahlen als sterilisierendes Agens für Nahrungsmittel verwendet werden können<sup>1, 2</sup>. Kürzlich wurde über die Wirkung ionisierender Strahlen auf gewisse Vitamine, insbesondere solche in der menschlichen Nahrung, berichtet<sup>3, 4</sup>. Die von verschiedenen Autoren erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß hochgespannte Kathodenstrahlen L-Ascorbinsäure in situ und in vitro zerstören<sup>5, 6, 7, 8</sup>. Ferner wurde über die Zersetzung von

<sup>1</sup> G. G. Dunn, W. L. Campbell, H. Farm und A. Hutchins, J. Appl. Phys. **19**, 605 (1948).

<sup>2</sup> B. E. Proctor, Ind. Refrig. **127** (1) 17 (1954).

<sup>3</sup> S. A. Goldblith, B. E. Proctor, J. R. Hogness und W. H. Langham, J. Biol. Chem. **179**, 1163 (1949).

<sup>4</sup> B. E. Proctor und S. A. Goldblith, Nucleonics **3**, Nr. 2, 32 (1949).

<sup>5</sup> R. S. Anderson und B. Harrison, J. Gen. Physiol. **27**, 69 (1943).

<sup>6</sup> W. M. Dale, Biochem. J. **34**, 1367 (1940).

<sup>7</sup> A. Forsberg, Nature [London] **159**, 308 (1947).

<sup>8</sup> A. A. Tytell und H. Kersten, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **48**, 521 (1941).

Vitamin C sowohl in Pflanzen als auch in wäßriger Lösung durch  $\gamma$ -Strahlen berichtet<sup>9, 10</sup>.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Änderungen des Ascorbinsäuregehaltes von Samen der *Vicia faba* während der Keimung sowie den Effekt, den die von kleinen Mengen  $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$  abgegebene  $\beta$ -Strahlung auf diese Änderungen hat.

### Experimenteller Teil

*Bestrahlung der Samen:* 100 g luftgetrockneter Samen der *Vicia faba* (u. zw. Samen der Arten Rebya 34, Giza I und Giza II) wurden in 500 ml destill. Wasser, das 100  $\mu\text{C}$   $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$  (spezif. Aktiv.: 1 mC je mg  $^{32}\text{P}$ ) enthielt, 48 Std. lang geweicht, hierauf mehrere Male mit Leitungswasser und schließlich mit destill. Wasser gewaschen. Die Weiche wurde für jede Samenart getrennt ausgeführt.

Während der günstigsten Jahreszeit (Oktober und November) wurden die Samen in der bereits früher beschriebenen Weise<sup>11, 12</sup> in Töpfe (3 Samen je Topf) ausgesät. Während einer Periode von 30 Tagen wurde der Ascorbinsäuregehalt der Keimlinge mit Hilfe der N-Bromsuccinimid-Methode<sup>13</sup> bestimmt.

Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurde für jede der untersuchten Bohnenarten ein Kontrollexperiment ausgeführt, bei welchem in der oben beschriebenen Weise verfahren, der Weiche jedoch keine Phosphorsäure zugesetzt wurde. Auch die Zugabe inaktiver Phosphorsäure zur Weiche erübrigte sich, da sowohl die als Strahlungsquelle eingesetzte Menge Radiophosphats (100  $\mu\text{g}$   $^{32}\text{P}$ ) vernachlässigbar klein war als auch das Phosphation die quantitative Bestimmung des Vitamins C nicht stört.

*Aktivitätsmessungen:* Die von den Samen aufgenommene Radioaktivität wurde wie folgt bestimmt: 5 g des geweichten Samens wurden mit 20 ml konz.  $\text{HNO}_3$  digeriert und dann mit destill. Wasser auf 100 ml verdünnt. Das Zählen wurde an einem aliquoten Teil (3 ml) mit Hilfe eines *Geiger-Müller*-Glockenzählrohrs (end window G. M. tube), das an ein Ekco-Zählgerät angeschlossen war, ausgeführt. Die prozentuellen Aufnahmen von Radiophosphat betragen für die *Vicia faba*-Samen der Art

Rebya 34	0,26 $\mu\text{g}$ $^{32}\text{P}\%$ ,
Giza I	0,33 $\mu\text{g}$ $^{32}\text{P}\%$ ,
Giza II	0,49 $\mu\text{g}$ $^{32}\text{P}\%$ .

*Zur Bestimmung des Gehaltes an Vitamin C* wurden 10 g der keimenden Samen mit 50 ml 20proz. Trichloressigsäure homogenisiert und dann 5 Min. lang bei 2000 U/min zentrifugiert. 10 ml der überstehenden Lösung — sie

<sup>9</sup> J. F. Spalding, E. C. Anderson und W. Langham, *Radiation Res.* **3**, 348 (1952).

<sup>10</sup> B. E. Proctor und J. P. O'Meara, *Ind. Engng. Chem.* **43**, 718 (1951).

<sup>11</sup> M. F. Abdel-Wahab, S. A. El-Kinawi und M. I. Naguib, *Fourth Egyptian Chem. Confer.*, May 1959.

<sup>12</sup> M. F. Abdel-Wahab und S. A. El-Kinawi, *Acta Chem. Scand.* **13**, 1653 (1959).

<sup>13</sup> M. Z. Barakat, M. F. Abdel-Wahab und M. M. El-Sadr, *Anal. Chem.* **27**, 536 (1955).

entsprechen 2 g Keimlingen — wurden mit 2 ml einer 4proz. KJ-Lösung und 5 Tropfen Stärkelösung versetzt und dann unter ständigem Umschütteln

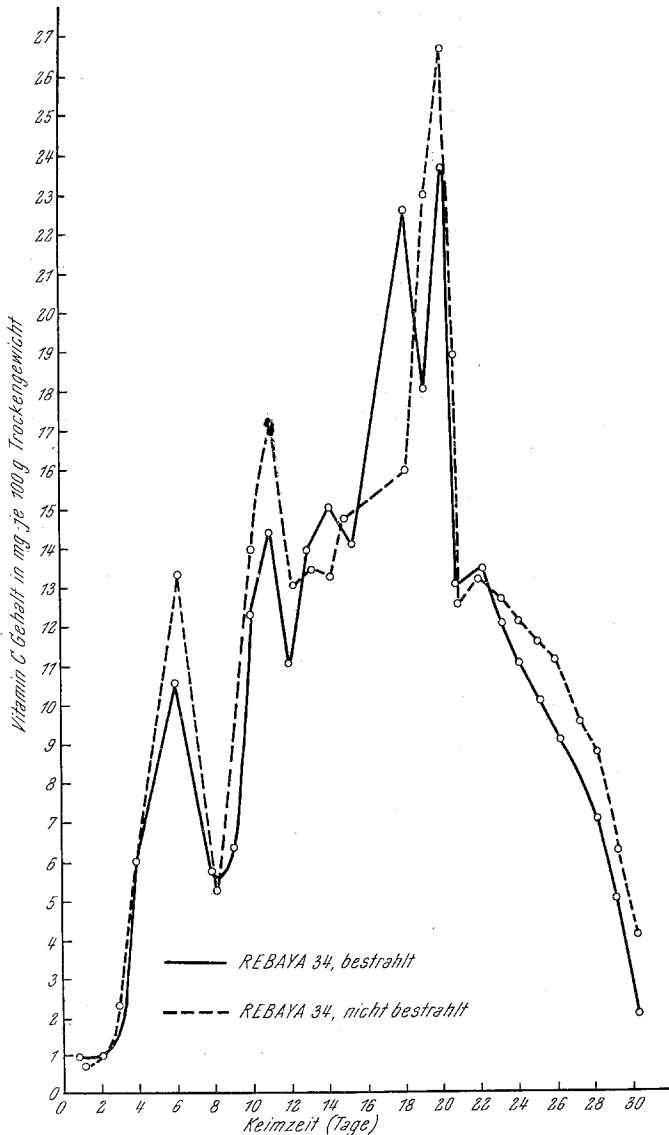


Abb. 1. Änderung des Vitamin C-Gehaltes von Rebaya 34; Samen während der Keimperiode

mit 0,01proz. N-Bromsuccinimidlösung (NBS) titriert, bis bleibende Blaufärbung eintrat (Endpunkt). Die abgelesenen Volumina wurden durch den Blindwert (0,09 ml 0,01proz. NBS) korrigiert. Jede Titration wurde durch zwei weitere Bestimmungen kontrolliert; in den Abb. 1 bis 4 sind die Mittel-

werte aus den drei Ablesungen eingetragen. Der Gehalt an Vitamin C wurde in mg je 100 g Trockengewicht der verschiedenen Keimlinge berechnet.

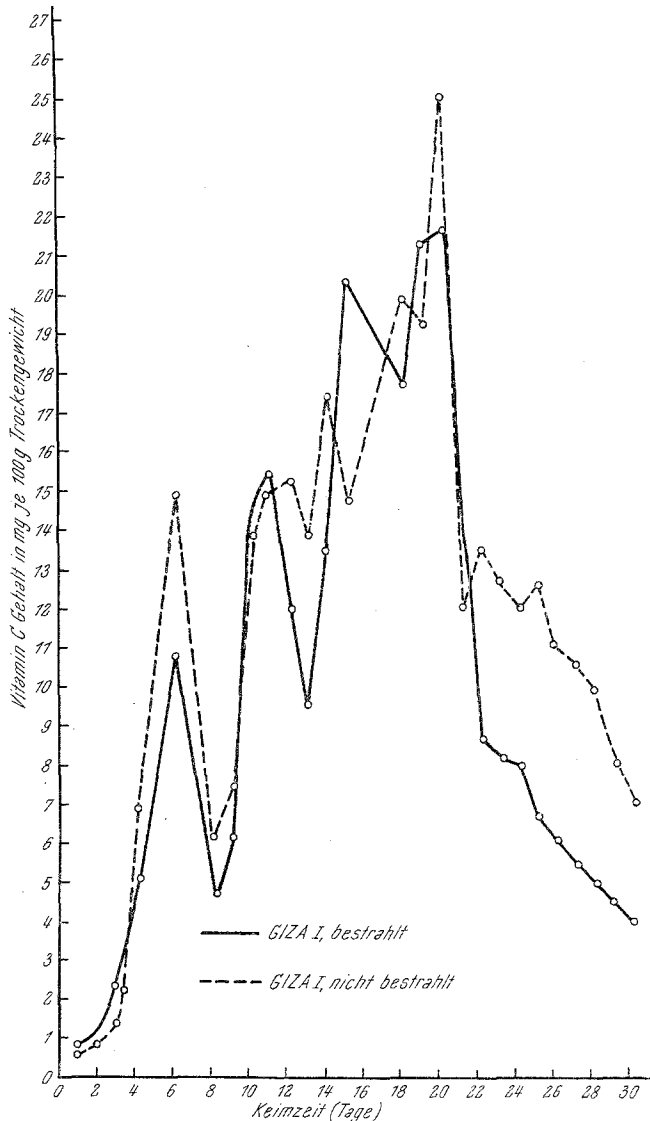


Abb. 2. Änderung des Vitamin C-Gehaltes von Giza I; Samen (im Oktober oder November gesät) während der Keimperiode

Da die Zugabe von verschiedenen Mengen Phosphat den Endpunkt nicht ändert, kann als erwiesen angesehen werden, daß Phosphat die Bestimmung von Vitamin C in der angegebenen Weise nicht stört. Für jede Bestimmung wurde mehr als eine Pflanze verwendet.

Während die Hauptversuche in den Monaten Oktober und November ausgeführt wurden, wurde einer der Versuche in einer anderen Jahreszeit (Februar und März) wiederholt, um die erhaltenen Ergebnisse zu stützen.

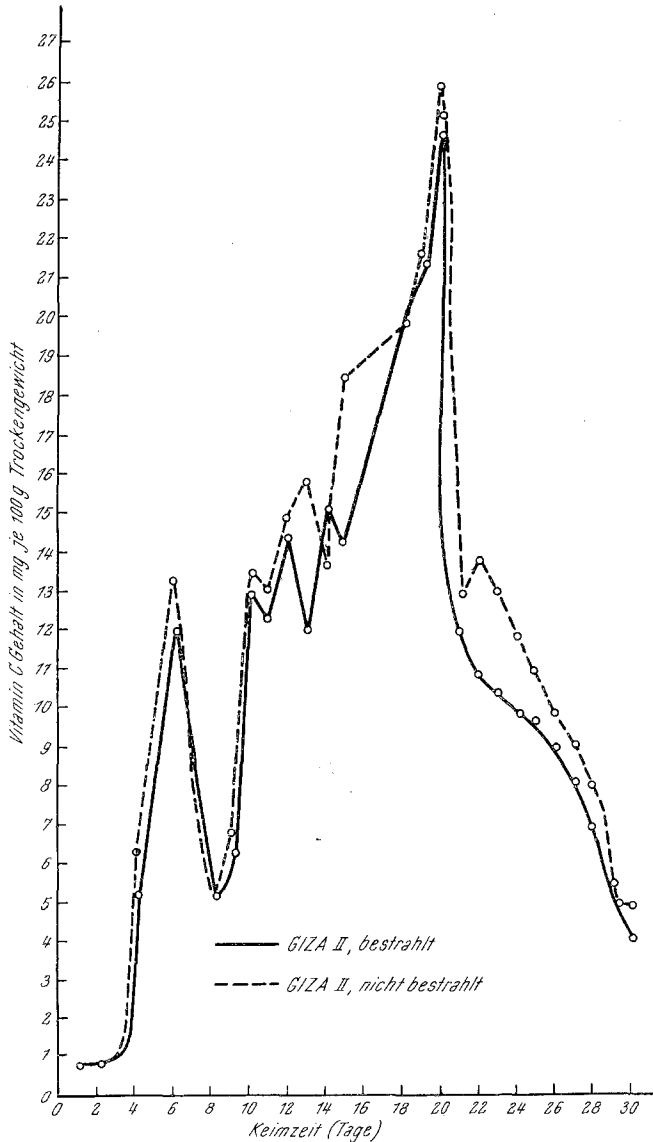


Abb. 3. Änderung des Vitamin C-Gehaltes von Giza II; Samen während der Keimperiode

### Ergebnisse

Die Abb. 1 bis 3 geben die Ergebnisse wieder, die wir an den während der Monate Oktober und November ausgesäten, bestrahlten bzw. nicht be-

strahlten Samen der Rebaya 34, Giza I und Giza II erhalten haben, während in Abb. 4 die Ergebnisse zusammengefaßt sind, die wir mit bestrahltem und nicht bestrahltem Samen der Giza I, welcher während der Monate Februar und März ausgesät wurde, erzielten.

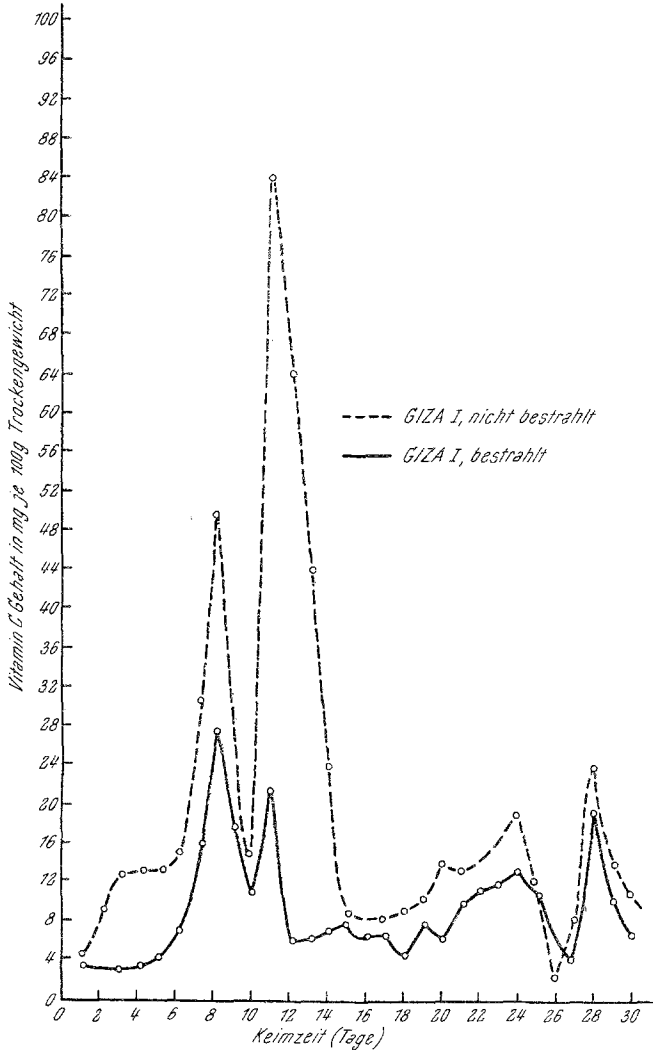


Abb. 4. Änderung des Vitamin C-Gehaltes von Giza I; Samen (im Februar oder März gesät) während der Keimperiode

Bei allen Versuchen zeigt sich eine signifikante Verringerung des Ascorbinsäuregehaltes der bestrahlten Keimlinge im Vergleich mit den Kontrollversuchen. Die maximalen und die durchschnittlichen Unterschiede betragen für Rebaya 34 (Abb. 1) 20,4% bzw. 6,3%, für Giza I (im Oktober oder November gesät, Abb. 2) 47,6% bzw. 18,9%, für Giza II (Abb. 3)

24,1% bzw. 8,9% und für Giza I (im Februar oder März gesät, Abb. 4) 74% bzw. 8%.

### Diskussion

Reife Samen haben einen geringeren Gehalt an Vitamin C. Während der Keimung wird viel Vitamin C gebildet, und sprossende Samen sind daher reich an Vitamin C.

In der vorliegenden Arbeit haben wir eine Bild vom durchschnittlichen Ascorbinsäuregehalt von *Vicia faba*-Keimlingen, die vor dem Aussäen einer  $\beta$ -Bestrahlung ausgesetzt bzw. nicht ausgesetzt waren, zu geben versucht. Die Ascorbinsäure wurde aus den Keimlingen mit 20proz. Trichloressigsäure kalt extrahiert. Als  $\beta$ -Strahlenquelle wurde  $^{32}\text{P}$  in Form der  $\text{H}_3^{32}\text{PO}_4$  benutzt. Die ohne Schädigung aufnehmbare Aktivität wurde vorher zu  $1\ \mu\text{C}$  je Gramm trockenen Samens bei 48stdg. Bestrahlungsdauer bestimmt<sup>11, 12</sup>.

Die Diagramme der Abb. 1 bis 3 zeigen die Änderung des Ascorbinsäuregehaltes während der Keimung der Samen dreier *Vicia faba*-Arten. Die für bestrahlten Samen und die bei den Kontrollversuchen erhaltenen Ergebnisse sind für diese Samenarten ziemlich gleichartig. In den Diagrammen zeichnen sich drei Spitzen ab. Die erste Spitze tritt am 6. Tag, die zweite am 11. Tag und die dritte am 20. Tag der Keimung auf. Merkliehe Erhöhungen und Erniedrigungen des Ascorbinsäuregehaltes sind so während der Keimungsperiode zu beobachten. Diese periodischen Schwankungen im Ascorbinsäuregehalt dürften sehr wahrscheinlich auf die Verwendung des Vitamins in verschiedenen Metabolismen zurückgehen, eine Vorstellung, die noch näherer Untersuchung bedarf.

Der hohe Ascorbinsäuregehalt, den Abb. 4 im Vergleich mit den Abb. 1 bis 3 aufweist, geht darauf zurück, daß die Samen während einer anderen Jahreszeit ausgesät wurden.

Es zeigt sich, daß die von kleinen Mengen Radiophosphors emittierte  $\beta$ -Strahlung den Ascorbinsäuregehalt verringert, entweder durch eine Verminderung der Bildung oder durch die Induktion der Zersetzung dieses Vitamins während der Keimperiode.

Die Autoren danken den Herren *H. Taufik* und *Y. Megahed* für ihre Mithilfe bei einigen Versuchen in der zweiten Jahreszeit.