

Die γ -Bestrahlung von Phytinsäure in wäßriger Lösung*

Von

E. Bancher, J. Washüttl und B. Schmidt

Aus dem Institut für Botanik, Technische Mikroskopie und Organische
Rohstofflehre der Technische Hochschule Wien

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 20. August 1970)

The γ -Irradiation of Phytic Acid in Aqueous Solution

Cleavage products observed to arise as a result of irradiation at a dose of 30 Mrad were *myo*-inositol tetraphosphate, *myo*-inositol pentaphosphate and *myo*-inositol isopentaphosphate.

Es wird über die Radiolyse der Phytinsäure in wäßr. Lösung berichtet. Bei Bestrahlung mit einer Dosis von 30 Mrad konnte das Auftreten von *myo*-Inosittetraphosphat, *myo*-Inositpentaphosphat und *myo*-Inositisopentaphosphat als Spaltungsprodukte beobachtet werden.

Einleitung

Die Phytinsäure, der Hexaphosphorsäureester des *myo*-Inosits, findet sich entweder frei oder als Salz in höheren Pflanzen, aber zum Beispiel auch in Vogelerythrocyten. Der Phytinsäure, beziehungsweise ihrem Ca/Mg-Salz, dem Phytin, wird die Funktion einer Phosphorspeichersubstanz zugeschrieben, da in manchen Samen, wie zum Beispiel beim Reis, die Hauptmenge des gebundenen Phosphates als Phytin vorliegt und erst während der Keimung das Phosphat freigesetzt wird (z. B.¹).

Da über die Radiolyse von Phytinsäurelösungen nur wenige Angaben vorliegen², erschien es uns zunächst wichtig, modellmäßig das strahlenchemische Verhalten der reinen Phytinsäure in wäßriger Lösung näher zu untersuchen. Hierbei sollte überprüft werden, welche Bindung die strahlenempfindlichste ist; aus Vergleichsgründen war anzunehmen, daß es die Esterbindung ist (vgl. dazu Radiolyse von Phosphorsäureestern und Nucleinsäuren bei *Kaindl*²). Deshalb mußte bei γ -Bestrahlung in erster

* Herrn Prof. Dr. O. Hromatka ergebenst zu seinem 65. Geburtstag gewidmet.

Linie mit einer Abspaltung von Phosphorsäure und dem Auftreten von Inositphosphorsäureestern mit weniger als sechs Phosphatgruppen gerechnet werden.

Material und Methodik

Die bei der Bestrahlung einer wäßr. Phytinsäurelösung zu erwartenden niederen Inositphosphate wurden nach einer Methode von *Schormüller*³ (saure Hydrolyse der Phytinsäure und anschließende Chromatographie über Ionenaustauschssäulen) als Modellsubstanzen präparativ hergestellt. Nach diesen Angaben (die zur Hydrolyse eingesetzten Phytinsäuremengen, der aliquoten Anteil zur säulenchromatographischen Auftrennung mittels Gradientenelution usw.) wurden für Vergleichszwecke 3,1 mMol reiner Phytinsäure in 100 ml Wasser gelöst und mit einer Dosis von 30 Mrad unter Durchleiten von Sauerstoff bestrahlt; 30 Mrad sind deshalb gewählt worden, weil bei dieser Dosis erstmals eine zur Bestimmung hinreichende Menge der Radiohydrolyseprodukte anfiel. Die Dosisleistung der ⁶⁰Co-Quelle betrug 0,5 Mrad/Stde. Unter Anwendung der oben zitierten Methode für die Chromatographie der Hydrolyseprodukte wurde die bestrahlte Lösung in einzelne *myo*-Inositphosphorsäureester und Phosphorsäure aufgetrennt. Die einzelnen Inositphosphate wurden außerdem noch mittels der üblichen chemischen Verfahren (z. B. Bestimmung des C- und P-Gehaltes, bez. auf Trockensubstanz) identifiziert.

Bei der Säulenchromatographie wurden 350 Fraktionen von je 5 ml in einem Fraktionskollektor gesammelt und nach einem gleichfalls von *Schormüller*³ ausgearbeiteten Verfahren unter Verwendung des *Hanes—Isherwood*-Reagens auf Phosphat geprüft; die Fraktionen 38—80, 95—141, 146—184 und 185—319 wurden zu Gruppen vereinigt. Wie bei den Hydrolyseprodukten³ wurden die Bariumsalze der Inositphosphate ausgefällt und gravimetrisch bestimmt.

Ergebnisse

Die Diagramme 1 und 2 zeigen die Trennung der Inositphosphorsäureester einerseits nach Hydrolyse (Abb. 1) und andererseits nach Bestrahlung der Phytinsäurelösung (Abb. 2); die Intensität der Phosphatnachweisreaktion wurde wie bei *Schormüller*³ in sehr wenig, wenig, stark und sehr stark gestuft.

Außerdem wurde in diesen Diagrammen auch noch die Salzsäurekonzentration bei jeder 10. Fraktion durch Titration mit 0,2N-NaOH bestimmt und nach je 50 ml Durchlauf graphisch dargestellt.

In der Tabelle sind die Ausbeuten an den verschiedenen Inositphosphorsäureestern nach Hydrolyse (linke Seite), jenen nach γ -Bestrahlung der wäßr. Phytinsäurelösung (rechte Seite) gegenübergestellt (Mittelwerte aus je 2 Bestimmungen; durchschnittliche Abweichung etwa ± 8 bis $\pm 10\%$).

Neben den Inositphosphaten wurde bei der Hydrolyse und auch bei der γ -Bestrahlung freie Phosphorsäure gebildet, die in den mit 0,2N-HCl

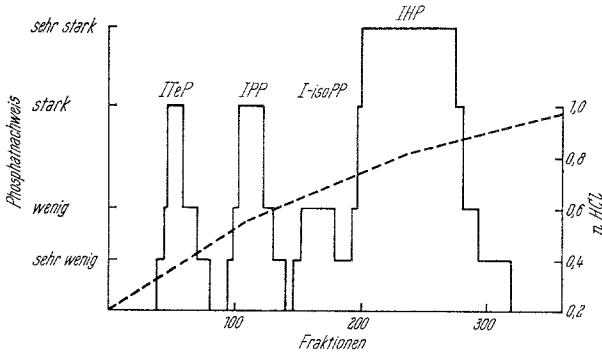


Abb. 1. Säure Hydrolyse einer wässrigen Phytinsäurelösung

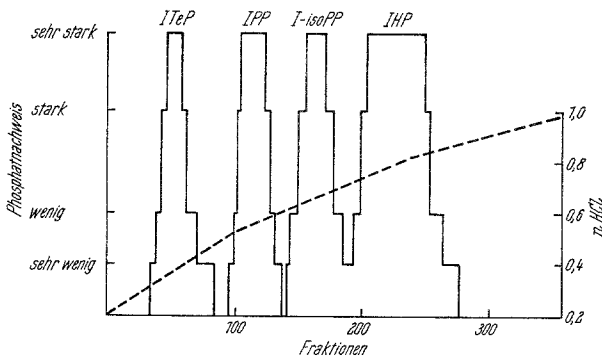


Abb. 2. Bestrahlung einer Phytinsäurelösung mit 30 Mrad

Tabelle 1

Substanz	Hydrolyse		Bestrahlung	
	mMol	% d. Ausg.-Subst.	mMol	% d. Ausg.-Subst.
<i>myo</i> -ITP	0,21	7	0,13	4,2
<i>myo</i> -IPP	0,61	19,5	0,25	8,1
<i>myo</i> -isoIPP	0,42	13,6	0,06	1,9
<i>myo</i> -IHP	1,38	44,5	2,51	81,0
<i>myo</i> -ITP	<i>myo</i> -Inosittetraphosphorsäureester			
<i>myo</i> -IPP	<i>myo</i> -Inositpentaphosphorsäureester			
<i>myo</i> -isoIPP	<i>myo</i> -Inositisopentaphosphorsäureester			
<i>myo</i> -IHP	<i>myo</i> -Inosithexaphosphorsäureester			

von der Chromatographiesäule eluierten Waschfraktionen nachgewiesen werden konnte.

Das Auftreten niederer Inositphosphorsäureester zeigt, daß in der Phytinsäure bei der Radiolyse in wäßr. Lösung erwartungsgemäß die Esterbindung angegriffen wird. Die Gesamtmenge dieser Produkte beträgt aber selbst bei der sehr hohen Dosis von 30 Mrad nur etwa 14% der Ausgangssubstanz. Bei Versuchen mit niederen Bestrahlungsdosen (10 und 20 Mrad) erwies sich die zur Verfügung stehende Untersuchungsmethode als unzureichend, weil dabei zu geringe Mengen an Spaltungsprodukten gebildet wurden.

Literatur

¹ *J. Schormüller*, Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer. 1961.

² *K. Kaindl* und *E. H. Graul*, Strahlenchemie, Heidelberg: Hüthig-Verlag. 1967.

³ *J. Schormüller* und *G. Bressau*, Z. Lebensmittelunters. u. -forsch. **113**, 484 (1960).