

Über die Bildung von Malondialdehyd bei der Bestrahlung von Glycerin

Die Bildung geringer Mengen von Malondialdehyd wurde als Folge einer Behandlung mit ionisierenden Strahlen in verschiedenen Lebensmitteln wie Milch¹, Fleisch², Fetten^{2,3} und Kohlenhydraten^{4,5} nachgewiesen. Auch bei der Bestrahlung einzelner Bestandteile der Nahrungsmittel, wie Monosaccharide, Carbonsäuren⁶ sowie einiger Aminosäuren⁷, wird diese Substanz durch teilweise noch nicht geklärte Reaktionen gebildet. Da es immer noch keine befriedigenden Methoden zum Nachweis einer erfolgten Bestrahlung von Lebensmitteln gibt, und da sich Malondialdehyd durch sehr empfindliche Farbreaktionen noch in geringer Konzentration nachweisen lässt, ist seine Anwesenheit in Lebensmitteln von besonderem Interesse. Die Frage, welchen Einfluss der pH-Wert auf die strahleninduzierte Bildung dieser Substanz besitzt, ist bisher weitgehend unberücksichtigt geblieben. Wie die folgenden Ergebnisse, die an der Modellsubstanz Glycerin erhalten wurden, zeigen, kann der pH-Einfluss für die sehr unterschiedlichen Angaben über den Malondialdehydgehalt bestrahlter Lebensmittel verantwortlich sein.

Material und Methodik. Als Reagentien wurden verwendet: Glycerin (Merck), 2-Methylindol (Fluka), 1,1,3,3-Tetraäthoxypropan (Fluka), konz. HCl und abs. Äthanol.

Je 10 ml einer 1% Glycerinlösung in bidestilliertem Wasser, deren pH-Werte mit 0,1 N H₂SO₄ und M/15 Phosphatpuffer eingestellt waren, wurden in 20 ml Rollrandfläschchen gefüllt und der vorhandene Sauerstoff durch intensives Durchleiten eines reinen Stickstoffstromes entfernt. Die verschlossenen Gefäße wurden dann mit 10 MeV Elektronen bestrahlt, wobei die Dosis variiert wurde. Als Strahlenquelle diente der Linearbeschleuniger des Instituts. Zwei Stunden nach der Bestrahlung wurde der Malondialdehydgehalt zum ersten Mal bestimmt. Hiernach wurden die Proben bei 25°C unter Luftzutritt gelagert und nach 24 h, 8 Tagen und 14 Tagen nochmals analysiert.

Zur Bestimmung des gebildeten Malondialdehyds wurde die Farbreaktion mit 2-Methylindol in salzsaurer äthanolischer Lösung herangezogen⁸. Dieses Reagenz besitzt den Vorteil gegenüber der gebräuchlichen Thiobarbitursäure, schon bei Zimmertemperatur mit Malondialdehyd eine intensive Rotfärbung mit einem scharfen Absorptionsmaximum bei 555 nm zu geben, welche quantitativ auswertbar ist. Je 1 ml der bestrahlten Proben wurden mit 2 ml des Reagenzes versetzt, welches durch Lösen von 0,1 g 2-Methylindol in einem Gemisch von 100 ml reinem Äthanol und 25 ml konzentrierter HCl bereitete wurde. Nach 30 min langem Stehen bei Raumtemperatur wurde die Absorption gemessen. Als Vergleichssubstanz für die bei jedem Versuch aufzustellende Eichkurve diente 1,1,3,3-Tetraäthoxypropan (Malondialdehydtetraäthylacetal), aus welchem der Aldehyd durch saure Hydrolyse freigesetzt wurde.

Ergebnisse und Diskussion. Figur 1 zeigt die starke Abhängigkeit der strahleninduzierten Malondialdehydbildung vom pH-Wert sowie die Abnahme der Malondialdehydkonzentration während der Lagerung bei Zimmertemperatur. Die Kurven wurden in 2 Teile geteilt (I, II), da der eine pH-Bereich von 1–4 mit 0,1 N Schwefelsäure, der andere von 4–9 mit M/15 Phosphatpuffer eingestellt war. Da neben dem pH-Wert auch die anderen in der Lösung vorhandenen Ionen die strahlenchemischen Reaktionen beeinflussen können, sind die beiden Teile der Kurve nicht exakt vergleichbar. Eine Einstellung der basischen pH-Werte mit 0,1 N NaOH ist nicht möglich, da während der Bestrahlung saure Produkte auftreten und dadurch der pH-Wert in ungepufferten Glycerinlösungen sehr rasch auf einen Grenzwert von 4,1–4,3 sinkt. Im neutralen und sauren Gebiet wurde die Malondialdehydkonzentra-

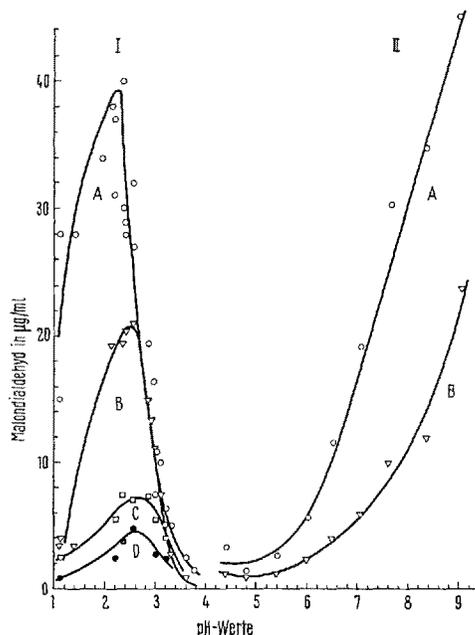


Fig. 1. Abhängigkeit der Malondialdehydkonzentration von dem pH-Wert der 1% Glycerinlösung bei der Bestrahlung in Abwesenheit von Sauerstoff. Strahlendosis: 5 Mrad, Einstellung des pH-Wertes mit 0,1 N H₂SO₄ (Kurven I) und M/15 Phosphatpuffer (Kurven II); A (o) Konzentration 2 h, B (∇) 24 h, C (□) 8 Tage und D (●) 14 Tage nach der Bestrahlung.

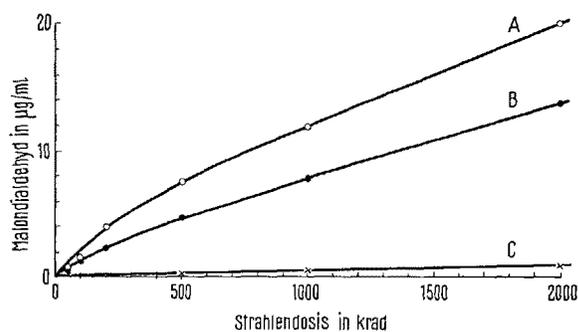


Fig. 2. Abhängigkeit des Malondialdehydgehaltes von der Strahlendosis bei der Bestrahlung einer 1% Glycerinlösung in Abwesenheit von Sauerstoff. A, Konzentrationsverlauf bei pH 2,35, B, bei 8,55 und C, bei 5,50.

- 1 J. H. WERTHEIM und B. E. PROCTOR, *J. Dairy Sci.* **39**, 391 (1956).
- 2 G. THIEULIN, J. MORRE und L. RICHOU, *Annls. Nutr. Aliment.* **17**, 385 (1963).
- 3 T. W. KWON und H. S. OLCOTT, *J. Food Sci.* **31**, 552 (1966).
- 4 H. STREULI, *Mitt. Geb. Lebensmitteluntersuch. u. Hyg.* **47**, 221 (1956).
- 5 J. MORRE und S. MORRAZANI-PELLETIER, *C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris*, **262**, 1729 (1966).
- 6 K. TÄUFEL und R. ZIMMERMANN, *Z. Lebensmittelunters. u. -forsch.* **118**, 105 (1962).
- 7 K. AMBE und A. TAPPEL, *J. Food Sci.* **26**, 448 (1961).
- 8 H. SCHERZ, G. STEHLIK, E. BANCHER und K. KAINDL, *Mikrochim. Acta* **1967**, 916.

tion bis 14 Tage nach der Bestrahlung gemessen (Kurven A, B, C, D). Im alkalischen Gebiet war dies nach 8 Tagen wegen der Bildung von Redukton (2,3-Dioxyacrolein) nicht mehr möglich, da dieses mit dem 2-Methylindolreagenz einen tiefblauen Farbstoff bildet und somit die Bestimmung stört.

Die Abhängigkeit der Malondialdehydkonzentration von der Strahlendosis bei konstantem pH-Wert in einem Dosisbereich von 0–2000 krad zeigt Figur 2. Aus diesen Ergebnissen konnten die folgenden Anfangs-G-Werte berechnet werden: Für den pH-Wert von 2,35 0,202 Moleküle/100 eV, für den pH-Wert von 8,55 0,168 Moleküle/100 eV und für den pH-Wert von 5,50 nur 0,017 Moleküle/100 eV.

Die Ursache für die starke pH-Abhängigkeit der strahleninduzierten Bildung von Malondialdehyd konnte noch

nicht geklärt werden. Sie dürfte aber mit der pH-Abhängigkeit der Bildung von H-Atomen und solvatisierten Elektronen zusammenhängen, die bei der primär erfolgenden Wasserradiolyse entstehen.

Summary. A strong pH dependence of the radiation induced formation of malondialdehyde in 1% glycerol solution was observed. The following G-values were found: 0,202 at pH 2,35, 0,017 at pH 5,50 and 0,168 at pH 8,55.

H. SCHERZ

Institut für Strahlentechnologie der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelrisikohaltung, 75 Karlsruhe (Deutschland), 14. Dezember 1967.

Chemical Studies of *Jasminum auriculatum* (Vahl) Leaves - II

The present communication deals with chemical investigation of certain fractions isolated from the leaves of *Jasminum auriculatum*, which are known to possess wound healing properties¹.

The non-saponifiable portion obtained from dried leaves¹ was run over neutral alumina column (benzene: ethyl acetate, 50:50) and 2 fractions of hydrocarbons, one with a sharp m.p. 65° (I) and the other with a m.p. 60–65°, were obtained. This latter fraction was resolved further over neutral alumina column using the same solvent system into 2 more fractions (II) m.p. 62–63° and (III) m.p. 71°. Both (II) and (III) were crystallised from ethanol hexane mixture. The IR-spectra of (I) and (III) exhibited the following peaks: (I) (3400, 2850, 2030, 1450, 730, 710 cm⁻¹) (III) (3400, 2850, 2030, 1450, 730, 710 cm⁻¹) and the presence of a hydroxyl group, and their long chain hydrocarbon nature were thus indicated.

Fraction (III) was analysed for C₃₀H₆₂O, C: 81.9, H: 13.8% Found: C: 82.2, H: 14.0% and its acetate, m.p. 68° also on analysis gave the data C: 80.0, H: 13.5%, C₃₂H₆₄O₂ requires C: 80.0, H: 13.5% indicating it to be *n*-triacontanol². Further confirmation of this was obtained by mixed melting point determination with an authentic sample of the same.

The fraction (II) m.p. 62–63° revealed itself to be a long chain hydrocarbon hentriacontane (C₃₁H₆₄) from its IR-spectrum (2900, 2315, 2010, 1950, 1750, 1475, 1225, 735, 720 cm⁻¹), unaltered melting point with an authentic sample and analytical data; (analysed for C₃₁H₆₄, C: 85.32, H: 14.68% Found: C: 85.29, H: 14.60%). A study of fraction (I) m.p. 65° was however abandoned due to scarcity of material.

The previously reported¹ unidentified triterpene m.p. 208°, appears now to be an epimer of lupeol as it possesses identical IR-spectrum (3350, 2950, 1650, 1450, 1380, 1300, 1270, 1140, 1190, 1145, 1110, 1090, 1060, 1050, 1010, 999, 950, 920, 885, 860, 765, 750, 710 cm⁻¹) and causes considerable lowering in mixed melting point with an authentic sample of lupeol.

The total alcoholic extract of dried leaves (1 kg) after concentration under reduced pressure was filtered to remove brown sticky mass and was further concentrated to a relatively small volume. On standing at room temperature for 7 days, a brownish crystalline material was obtained which on crystallization (7 times) with rectified spirit deposited white needle-shaped solid (1.4%) m.p.

169–170°. This showed the following peaks in IR-spectrum (3350, 2900, 1350, 1300, 1250, 1200, 1100, 1025, 960, 920, 730 cm⁻¹) and no unsaturation in UV-spectrum. Its NMR-spectrum established its nature as aliphatic open-chain alcohol, with exchangeable hydroxyl protons (τ · 5.6). It was analysed for C₉H₁₄O₈ (M.W. 120)³ C: 39.56, H: 7.69% Found: C: 39.54, H: 7.63% and was confirmed as D-mannitol from its sweet taste, solubility, specific rotation $[\alpha]_D = -0.48$ (EtOH), and unchanged mixed melting point with an authentic sample of the same (m.m.p. 167°)³. It gave a hexa-acetate, m.p. 120° analyzed for C₁₈H₂₆O₁₂ C: 49.8, H: 6.8% Found: C: 50.1, H: 6.2% and hexabenzozoate 149°, which are in accordance with that of D-mannitol.

By paper chromatographic study (ascending, Whatman No. 1) of aqueous extract of the dried leaves, the presence of glucose (Rf = 0.22) and fructose (Rf = 0.28) was established using *n*-butanol, acetic acid and water (40:10:50) as irrigating solvent system and aniline hydrogen phthalate as developer⁴. The Rf value for D-mannitol observed for the present sample was the same as the one already reported^{1, 5}.

Zusammenfassung. D-Mannitol, Hentriacontane, *n*-Triacontanol, und ein Epimeres von Lupeol sind aus Blättern von *J. auriculatum* isoliert worden. Glukose und Fruktose sind papierchromatographisch festgestellt worden.

S. M. DESHPANDE and R. R. UPADHYAY

Department of Chemistry, Banaras Hindu University, Varanasi-5 (India), 12 December 1967.

¹ S. M. DESHPANDE and R. R. UPADHYAY, *Curr. Sci.* 36, 233 (1967).

² G. M. ROBINSON, *J. chem. Soc.* 1545 (1934).

³ I. HILBORN and H. M. BUNBURY, *Dictionary of Organic Compounds* (Eyre and Spottiswoode, London 1953), vol. 3, p. 215.

⁴ S. M. PARTIDGE, *Nature* 164, 443 (...).

⁵ Authors are thankful to Prof. G. B. SINGH, Head of Chemistry Department, Banaras Hindu University for providing necessary facilities. Our grateful thanks are extended to Prof. (Mrs.) A. CHATERJEE, Calcutta, Dr. K. P. AGARWAL, C. D. R. I., Lucknow for generous gifts of *n*-triacontanol and hentriacontane, and to Drs. J. FEENEY (U. K.) and U. SCHEIDEGGER, Varian AG, Zürich, for kindly supplying the NMR-spectra and valuable suggestions.