

**Zur Einwirkung von Röntgenstrahlen auf die ATP-Spaltung  
von Fischmuskulatur mit verschiedenem Wassergehalt**

Von

W. PARTMANN und A. BERGER\*

*Mitteilung aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe*

Mit 8 Textabbildungen

*(Eingegangen am 12. Oktober 1957)***Einleitung**

Bei der Suche nach neuen schonenden Möglichkeiten der Lebensmittelkonservierung hat man sich in den letzten 10 Jahren der Sterilisation durch ionisierende Strahlen zugewandt. Hierüber liegen bereits zahlreiche Untersuchungen hauptsächlich von amerikanischer Seite vor. Es sei auf die Zusammenfassung der wesentlichsten Ergebnisse dieser Arbeiten durch KUPRIANOFF<sup>1</sup> hingewiesen. Bei manchen Produkten kennt man inzwischen auch die zur Sterilisation erforderliche Dosis wenigstens größenordnungsmäßig.

Infolge seiner chemischen Zusammensetzung und seines strukturellen Aufbaus ist der Fischfleisch gegen mikrobielle Veränderungen besonders empfindlich. Eine Sterilisation des Fischfleisches durch ionisierende Strahlen würde daher günstige Aussichten eröffnen, vorausgesetzt daß das Produkt durch eine derartige Behandlung nicht oder in ernährungsphysiologischer Hinsicht nur unwesentlich verändert wird.

Neben einem kleinen Bindegewebsanteil besteht das Fischfleisch zur Hauptsache aus quer-gestreifter Muskulatur. Es ist bekannt, daß der Adenosintriphosphat (ATP) spaltende Mechanismus der Muskulatur, ihre Apyraseaktivität, für die Muskelkontraktion und damit für die Bewegungsvorgänge bei höheren Tieren von grundlegender Bedeutung ist. Wir haben an anderer Stelle gezeigt, daß das Apyrasesystem der Wirbeltiermuskulatur auch *post mortem* intakt bleibt<sup>2</sup>, aber gegen physikalische und chemische Einwirkungen sehr empfindlich ist und sein Verhalten als Indicator für tiefgreifende Einwirkungen auf die Muskulatur benutzt werden kann<sup>3</sup>.

Hier soll nun untersucht werden, welche Dosen bei der Behandlung von Fischfleisch mit energiereichen Strahlen — in unserem Fall benutzten wir Röntgenstrahlen — zu einer Inaktivierung des Apyrasesystems führen. Würden die zur Sterilisation erforderlichen Dosen zu keiner Schädigung des kontraktilen Mechanismus und damit auch zu keiner Hemmung der Apyraseaktivität führen, so würde das auf eine weitgehende Unversehrtheit des Gewebes hindeuten. Die Erhaltung eines so auffallenden und feinen biologisch-funktionellen Mechanismus setzt voraus, daß die daran beteiligten Eiweißstrukturen keine oder doch nur geringfügige Veränderungen erfahren haben. Bei Verfahren, die eine längere Lagerhaltung von Fisch oder Fleisch gewährleisten sollen, wird man besonders dann von einer schonenden Einwirkung auf diese Produkte überzeugt sein, wenn ihre Apyraseaktivität erhalten bleibt. Daß dieses weitgehend für das Gefrieren und eine bei genügend tiefen Temperaturen durchgeführte Gefrierlagerung zutrifft, hatten wir an anderer Stelle gezeigt<sup>2</sup>.

Abgesehen von der Kenntnis der zur Zerstörung wichtiger Fermente notwendigen Dosen für die Lebensmittelkonservierung, ist sie auch für den Katastrophenfall von Interesse, da wir zur Zeit über die Einwirkung hoher Strahlendosen auf Lebensmittel nur ungenügend unterrichtet sind.

\* Herrn H. SCHLASSUS danken wir für seine Mitarbeit bei den Versuchen zur Prüfung der Ozoneinwirkung auf die ATP-Spaltung in der Karpfenmuskulatur.

<sup>1</sup> KUPRIANOFF, J.: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **100**, 275 (1955); KUPRIANOFF, J.: Kältetechnik **9**, 90 (1957).

<sup>2</sup> PARTMANN, W.: Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. **99**, 341 (1954). — PARTMANN, W.: Naturwiss. **42**, 161 (1955).

<sup>3</sup> PARTMANN, W.: Food Res. **22**, 51 (1957).

Nach Untersuchungen von BARRON und Mitarbeitern<sup>1</sup> gehören die SH-Enzyme — also auch die Myosinadenosintriphosphatase, die bekanntlich neben der Myokinase die wesentliche Komponente des Apyrasesystems der Muskulatur darstellt — zu den gegen energiereiche Strahlung besonders empfindlichen Fermenten. Nun weichen die in verdünnten Myosinlösungen vorliegenden Bedingungen wesentlich von den in der Muskulatur vorhandenen ab, so daß es unmöglich erscheint, die von BARRON und Mitarbeitern<sup>1</sup> erzielten Ergebnisse auch nur größenordnungsmäßig auf die im Milieu der Muskulatur zu erwartenden Auswirkungen der Bestrahlung zu übertragen. Bekanntlich sind für die chemische Wirkung energiereicher Strahlen u. a. folgende Faktoren von großer Bedeutung: Wassergehalt, Gegenwart von Sauerstoff, die Konzentrationen an Elektrolyten und anderen Zusätzen sowie der  $p_{\text{H}}$ -Wert, wenn er weit außerhalb des physiologischen Bereiches liegt.

Wir haben daher an Fischmuskulatur mit normalem Wassergehalt die durch Röntgenstrahlen bedingten Aktivitätsänderungen des Apyrasesystems unter Luft und Stickstoff untersucht und u. a. auch geprüft, ob Ozon unter unseren Bedingungen aktivitätshemmend wirkt. In Versuchen mit gefriergetrockneter Muskulatur hofften wir, Rückschlüsse auf die Bedeutung eines geringen Wassergehaltes für die Enzyminaktivierung ziehen zu können. Wie weiter unten gezeigt wird, liefert speziell Wasser bei der Einwirkung ionisierender Strahlen außerordentlich reaktionsfähige intermediäre Teilchen, die ihrerseits wieder mit anderen Bestandteilen des Gewebes reagieren und zu sekundären Veränderungen der Muskulatur führen können. Dabei muß aber berücksichtigt werden, daß bei gleichen absorbierten Dosen die Strukturproteine der gefriergetrockneten Muskulatur — und damit ihr Apyrasesystem — mehr direkte Treffer erhalten werden als die Strukturproteine der Muskulatur mit normalem Wassergehalt. Es müßte sich also zeigen lassen, ob die primären Wirkungen der Bestrahlung in unserem Fall größer oder kleiner sind als die sekundären in erster Linie durch freie Radikalbildung bedingten. Der Vergleich wird allerdings dadurch erschwert, wenn nicht unmöglich gemacht, daß sich in dem komplexen System mit dem Wasserentzug u. a. die ionalen Verhältnisse wesentlich ändern.

Zum besseren Verständnis der Einwirkung ionisierender Strahlung auf das Apyrasesystem sei kurz auf die physikalischen und biologisch-chemischen Elementarvorgänge beim Strahlendurchtritt hingewiesen. Ein energiereiches Quant (Röntgen- oder  $\gamma$ -Strahl) wirkt beim Eindringen in biologische Objekte nicht unmittelbar auf diese ein. Während des Durchdringens löst das Quant weitere physikalische Prozesse, wie Photoionisation, Streuung, Comptoneffekt und bei sehr hoher Energie (oberhalb 1,02 MeV) Paarbildung aus, die eine Energieverteilung des Primärquants auf eine Reihe von Sekundärelektronen bewirken. Je nach der Größe der kinetischen Energie der Sekundärelektronen fliegen diese mehr oder weniger weit und geben in Zusammenstößen mit anderen Atomen und Molekülen ihre Energie ab. Es entstehen angeregte Atome, Ionen und Elektronen. Die Ionenpaare und aktivierte Atome, die Energien in der Größenordnung der molekularen Bindungsenergie besitzen, werden heute als die biologisch wirksamen Treffer angesehen. Ein Primärquant kann also eine große Zahl von Treffern liefern. Die Schädigung durch einen Treffer tritt an einem Molekül auf und kann die Schädigung der ganzen biologischen Einheit hervorrufen. Neben der Energieeinwirkung am Ort des Treffers kann in beschränktem Umfang auch Energiewanderung bis etwa über 1000 Atome weit stattfinden<sup>2</sup>.

Der überwiegende Anteil vieler biologischer Objekte besteht aus Wasser; ein großer Teil der Strahlenabsorption findet in ihm statt. Damit spielt sich auch ein großer Teil der Aktivierungsvorgänge an den Wassermolekülen ab. Das gilt sowohl für das in freier Form vorliegende, als auch für das an Komplexe (Proteine, Nucleinsäuren, Kohlenhydrate) gebundene Wasser. Als stabile Reaktionsprodukte wurden bei Bestrahlung von Wasser  $\text{H}_2$ ,  $\text{O}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  gefunden, dabei hängen die Ausbeuten sehr stark von der Gegenwart von Sauerstoff und anderen gelösten Stoffen ab. Als intermediäre Teilchen sind nachgewiesen bzw. höchstwahrscheinlich vorhanden:  $\text{H}$ ,  $\text{OH}$ ,  $\text{O}_2\text{H}$ ,  $\text{H}_2\text{O}^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}^-$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{H}^-$ ,  $\text{H}_2^+$ ,  $\text{O}^+$ ,  $\text{O}^-$ ,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{OH}^+$  und  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Den ersten drei

<sup>1</sup> BARRON, G. E. S., S. DICKMAN, J. A. MUNTZ u. TH. P. SINGER: J. Gen. Physiol. **32**, 537 (1949).

<sup>2</sup> TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Biophysik I. Das Trefferprinzip in der Biologie. Leipzig: Hirzel 1947.

kommt wegen ihrer verhältnismäßig großen Stabilität eine besondere Bedeutung zu<sup>1</sup>. Es sind daher im gesamten biologischen System Oxydationen und Reduktionen zu erwarten und auch beobachtet worden; daneben kommen Hydrolysen, Molekülsplattungen und Umwandlungen in stabilere Verbindungen vor. Neben diesen von strahlenchemischen Untersuchungen bekannten Reaktionen, die zeitlich unmittelbar dem Absorptionsprozeß folgen, sind noch eine große Zahl weiterer Reaktionen vorhanden, deren Aufklärung noch eine weitgesteckte Aufgabe ist. Mit gewissen Vorbehalten lassen sich die strahlenchemischen Reaktionen auch durch die Treffertheorie deuten.

## Methoden

### a) Messung der ATP-Spaltung

#### 1. Material

*Proben mit normalem Wassergehalt:* Für die Versuche wurde wegen ihrer im Vergleich zur Säugetiermuskulatur gleichmäßigeren Zusammensetzung und ihres höheren Anteils an Actomyosin Fischmuskulatur und zwar in unserem Fall das Apyrasesystem der Karpfenmuskulatur verwendet. Unmittelbar nach dem Töten und Ausblutenlassen der Fische wurden der myoglobinhaltige *Musculus lateralis superficialis* mit dem Seitenliniennerv entfernt und die weiße Seitenrumpfmuskulatur, sorgfältig präpariert. Sie wurde dreimal durch den Fleischwolf getrieben, gut gemischt und zu Proben von je 6 g in Reagenzgläser eingewogen, die bei Gegenwart von Luft am oberen Ende zugeschmolzen wurden. Die Proben wurden zur Spaltung des vorhandenen Kreatinphosphates und des im Verlauf der Glykolyse nachgebildeten Adenosintriphosphates (ATP) drei Std in einem Kühlschrank aufbewahrt und anschließend bei  $-24^{\circ}\text{C}$  gelagert. Es stand damit über viele Monate ein gleichmäßiges Breimaterial mit gleichbleibender Apyraseaktivität zur Verfügung<sup>2</sup>.

*Gefriergetrocknetes Material:* Ein Teil des Muskelbreies aus weißer Seitenrumpfmuskulatur wurde in runden Plexiglasschalen mit einem Durchmesser von  $\sim 50$  mm bei einer Schichtdicke von  $\sim 3$  mm auf Trockeneis gefroren. Die gefrorenen „Breitabletten“ ließen sich nach kurzem Eintauchen der Schalen in Leitungswasser mühelos herausnehmen. Sie wurden gleich auf dünnen Drahtnetzen aus rostfreiem Stahl in der Gefriertrocknungsanlage GO2 von LEYBOLD bei einem Vakuum von  $10^{-1}$  mm Hg auf einen Wassergehalt von  $\sim 3\%$  innerhalb von 6 Std bei  $-40^{\circ}$  bis  $-5^{\circ}\text{C}$  getrocknet. Das Material hatte bei der Gefriertrocknung keinen Verlust an Enzymaktivität erlitten und zeigte nach Wasserzugabe noch normale Kontraktilität der Muskelfasern bei ATP-Zusatz. Da sich jedoch in Vorversuchen ergeben hatte, daß es labil ist und bei Lagertemperaturen über  $0^{\circ}\text{C}$  nach Wochen ein deutliches Absinken seiner Apyraseaktivität festzustellen ist, wurde ein Teil der gefriergetrockneten Fischmuskulatur bei  $-24^{\circ}\text{C}$  gelagert und innerhalb von 14 Tagen nach Herstellung für die Bestrahlungsversuche benutzt. Ein anderer Teil wurde bei  $+20^{\circ}\text{C}$  gelagert, nach 7 Wochen wurde seine noch vorhandene Apyraseaktivität ermittelt. Auch dieses Material wurde anschließend innerhalb von 14 Tagen verschiedenen Dosen von Röntgenstrahlen ausgesetzt und auf die erfolgte Enzyminaktivierung geprüft. Eine weitere Portion des gefriergetrockneten Materials wurde ebenfalls bei  $+20^{\circ}\text{C}$ , aber unter Stickstoff gelagert und auf den Verlust an Enzymaktivität nach 7 Wochen geprüft; dieser Versuch diente einem Vergleich im Verhalten der Parallelproben bei einer Lagerung in Luft.

#### 2. Enzymansatz

0,5 g Muskelgewebe mit normalem Wassergehalt (75—80%) oder die entsprechende Menge an gefriergetrocknetem Material unter Berücksichtigung des Wasserverlustes (bei einem Endwassergehalt von 3 bis 4% etwa  $\frac{1}{8}$  g) wurden mit 1 g Seesand fein zerkleinert, dann mit 25 ml Veronalpuffer ( $p_{\text{H}} 7$ ) in einen 50 ml Meßkolben übergespült. Hierzu wurden 15 mg ATP- $\text{Na}_4$ -Salz der Zellstoffabrik Waldhof, Wiesbaden, gegeben. Bestimmungen des anorganischen, säurelabilen und Gesamt-P ergaben eine Reinheit des Präparates von über 80%. Der ATP-Abbau erfolgte bei  $20^{\circ}\text{C}$  und wurde nach 70 sec — unter unseren Bedingungen in der Nähe der Halbwertszeit für die ATP-Spaltung liegend<sup>3</sup> — durch Zusatz von Trichloressigsäure gestoppt. Die Endkonzentration an Trichloressigsäure im Ansatz betrug 10%. Nach dem Filtrieren wurden 2 aliquote Teile des Filtrates salzsauer auf Normalität 1 und auf gleiche Volumina gebracht. Eine der Proben wurde bei  $100^{\circ}\text{C}$  7 min hydrolysiert. Die P-Bestimmungen wurden mit der leicht modifizierten Methode von BERENBLUM u. CHAIN<sup>4</sup> durchgeführt, wie schon an anderer Stelle angegeben<sup>2</sup>. Bei

<sup>1</sup> ALLEN, A. V.: Radiation Res. 1, 85 (1954).

<sup>2</sup> PARTMANN, W.: Zit. S. 327, Anm. 2.

<sup>3</sup> PARTMANN, W.: Biochem. Z. 326, 260 (1955).

<sup>4</sup> BERENBLUM, J., u. E. CHAIN: Biochemic. J. 32, 295 (1938).

der Berechnung der ATP-Spaltung muß berücksichtigt werden, daß die Säurehydrolyse (7 min n-HCl bei 100° C) aus dem Muskelbrei einen bei langer Gefrierlagerung stabilen Phosphorsäureester spaltet, wobei etwa 100 µg P/g Muskel zusätzlich in Freiheit gesetzt werden<sup>1</sup>. Jeder der weiter unten angegebenen Werte für die ATP-Spaltung stellt einen Mittelwert aus 4 Bestimmungen dar.

## b) Bestrahlung der Proben

### 1. Versuchsanordnung

Zur Bestrahlung des Fischmuskelbreies wurde die in Abb. 1 dargestellte Versuchsanordnung benutzt. Lediglich bei der ersten Versuchsserie — Bestrahlung des Fischmuskelbreies in Luft — fehlte der mit Wasser von 18° C durchflossene Unterteil des Aufnahmegefäßes für die Schale mit

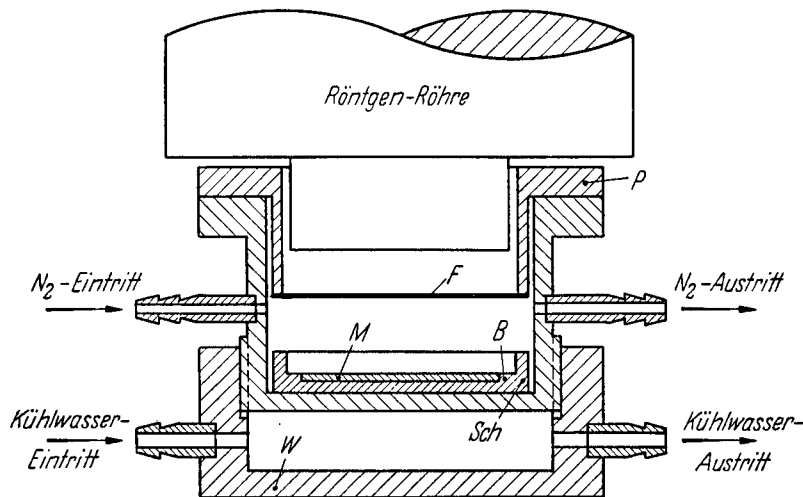


Abb. 1. Bestrahlungsanordnung. P = Paßring, F = Hostaphanfolie  $25 \cdot 10^{-3}$  mm, Sch = Schale für den Muskelbrei, B = Bodenring, M = Muskelbrei, W = Thermostatenunterteil

der Versuchssprobe. Bei den angewandten hohen Dosen war daher bei den unter Luftzutritt bestrahlten Proben eine Temperaturerhöhung im Fischmuskelbrei zu erwarten. Ein in der Mitte der bestrahlten Muskelbreischicht befindliches Thermolement Kupfer-Konstantan zeigte den als Kurve I in Abbildung 2 dargestellten Verlauf. Die vom Thermolement angezeigte Temperatur ist jedoch etwas höher als die wirkliche Temperatur des Muskelbreies, da das Thermolement stärker als die Umgebung Röntgenstrahlung absorbiert und eine geringere spezifische Wärme besitzt. Das an der Außenwand der Schale befindliche Thermolement läßt einen analogen

Temperaturverlauf erkennen (Kurve A, Abb. 2), wobei die gemessenen Temperaturen um 3–4° C niedriger liegen als die im Innern festgestellten. Die Messung der Außenwandtemperatur gestattet eine Kontrolle des Verlaufes der Innentemperatur unter Berücksichtigung dieser Temperaturdifferenz. Auf diese Weise wurde bei dem größten Teil der Bestrahlungsversuche in Luft, bei denen die Wassertemperatur der Versuchssprobe noch nicht vorhanden war, die Temperatur kontrolliert. Unter unseren Bedingungen wurde im Muskelbrei eine Temperatur von +28° C nicht überschritten.

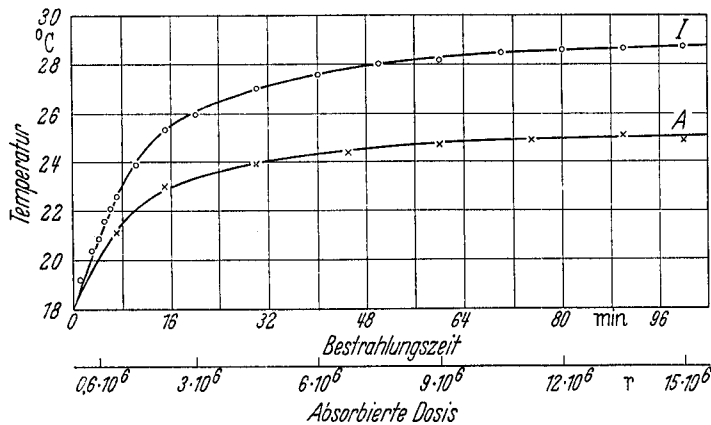


Abb. 2. Temperaturverlauf beim bestrahlten Fischmuskelbrei. (ohne Kühlung) Kurve I im Innern des Fischmuskelbreies, Kurve A an der Außenwand der Schale

Um mit frischem Fischmuskelbrei in einer sauerstofffreien Gasphase zu arbeiten, wurde bei der nächsten Versuchsserie strömender Stickstoff (17,5 l/Std, Gehalt an  $O_2 < 0,1\%$ ) angewandt. Es wurde strömender Stickstoff gewählt, um von kleinen Undichtigkeiten unab-

hängig zu sein. Zur Vermeidung von Wasserverlusten des Muskelbreies war der Stickstoff angefeuchtet. Der vom Stickstoff durchströmte Raum wurde auf der Bestrahlungsseite durch eine  $25 \cdot 10^{-3}$  mm starke Hostaphanfolie abgeschlossen (Abb. 1). Die Absorption der Röntgenstrahlen durch diese Folie war gering, sie wurde jedoch bei der Auswertung berücksichtigt. Der von Wasser von 18° C durchflossene Bodenteil der Bestrahlungsanordnung bewirkte, daß auch

<sup>1</sup> PARTMANN, W.: Zit. S. 327, Anm. 2.

bei sehr langen Bestrahlungszeiten die Temperatur im Fischmuskelbrei 19° C nicht überstieg, so daß sich in diesem Fall eine Temperaturkontrolle erübrigte.

2. Dosismessung

Die zur Bestrahlung benutzte Röntgenröhre wird durch folgende Daten gekennzeichnet: 60 kV, 20 mA, Beryllium-Fenster 1 mm. Spannung und Strom wurden während der Versuche ständig überwacht und konstant gehalten. Um große Dosisleistungen zu erhalten, betrug der Abstand der Schale (vgl. Abb. 1) mit dem Fischmuskelbrei vom Brennfleck der Röhre ~ 5,5 cm.

Die Dosisleistung wurde mit dem Universal-Dosismesser (Siemens-Reiniger) in Verbindung mit einer Phantomkammer gemessen. Der Faktor der Phantomkammer ist im Bereich von 40 bis 60 kV auf mindestens 3% genau vom Werk bestimmt worden. Für die Bereiche von 10, 20 und 30 kV dürfte der Kammerfaktor mit einem größeren Fehler behaftet sein, da dem Werk keine von der P.T.B. geeichten Vergleichskammern zur Verfügung standen; für diese Bereiche wurden daher Werksnormalien zur Eichung benutzt.

Der zur Umrechnung benutzte Kammerfaktor wurde entsprechend der spektralen Zusammensetzung der Röntgen-Strahlung, die ungefiltert zur Anwendung kam, gewählt. Der empfindlichste Meßbereich des Dosismessers gestattete eine direkte Messung bis etwa 3000 r/min, darüber hinaus konnte mit dem Aufladeverfahren integrierend bis etwa 30000 r/min gemessen werden. Größere Dosisleistungen ließen sich nicht mehr genau messen, da die Ladezeit zu klein war und die Ionenrekombination in der Kammer sich bemerkbar macht. Um auch die hohen Dosisleistungen bei kleinen Abständen messen zu können, wurde eine Eichung der Röhre vorgenommen und der Röntgenröhrenstrom für die Messung im Verhältnis 1:4 und 1:10 verkleinert. Es ist zu erwarten, daß die Dosisleistung proportional der Röntgenröhrenstromstärke ist (Abb. 3). So konnten wir den Meßbereich bis auf 300000 r/min ausdehnen.

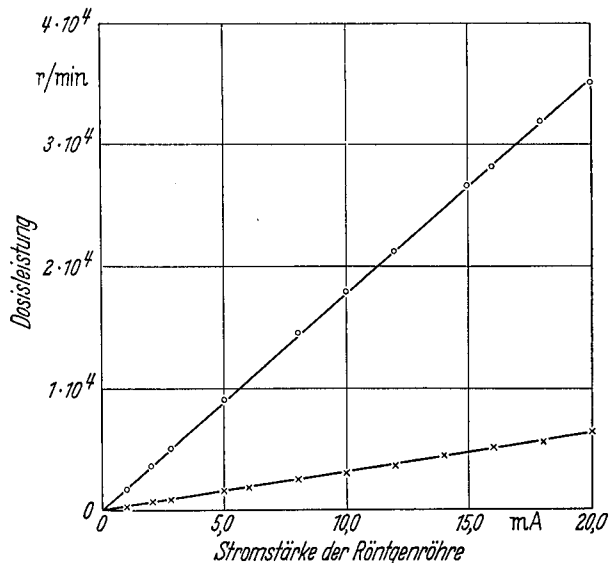


Abb. 3. Dosisleistung als Funktion der Stromstärke. Bei 12,7 cm (obere Kurve) und bei 27,7 cm (untere Kurve) Abstand vom Brennfleck der Röntgenröhre

Die Messung der Dosisleistung der Röntgenröhre zu verschiedenen Zeiten des Versuchsprogrammes ergab ausreichende Konstanz und zufriedenstellende Reproduzierbarkeit.

Die Abhängigkeit der Dosisleistung vom Abstand ist nicht genau quadratisch; einmal wird die ungefilterte weiche Strahlung bei großen Abständen von der Luft bereits meßbar absorbiert und zum andern ist bei kleinen Abständen der Brennfleck nicht mehr als punktförmig anzusehen. Daher ist man bei der Extrapolation auf kleine Änderungen des Abstandes beschränkt. Aus der Charakteristik der Röhre (Dosisleistung in Abhängigkeit vom Abstand) wurde bei bekanntem Schalenabstand der Wert der Dosisleistung an der Oberfläche des Fischmuskelbreies ermittelt; durch Multiplikation mit der Bestrahlungszeit erhielt man dann die Dosis an der Oberfläche in der Mitte der Probe. Dieser Wert entsprach bei der relativ niedrigen Energie dem Maximalwert der Ionisationsdichte des eindringenden Strahles. Um die absorbierte Dosis  $E_e$  zu ermitteln, wurde das von GLOCKER aufgestellte Grundgesetz der Röntgenstrahlwirkung benutzt:

$$E_e = E_0 (1 - e^{-\mu \cdot d}) \cdot \frac{\alpha \tau + \sigma_A}{\mu} \tag{1}$$

wobei  $E_0$  die Oberflächendosis in  $r$ ,  $d$  die Dicke der Muskelbreischicht in cm (hier ~ 1,5 Halbwertsschichten),  $\mu$  [cm<sup>-1</sup>] Schwächungskoeffizient,  $\tau$  [cm<sup>-1</sup>] Absorptionskoeffizient,  $\alpha$  Photoelektronenausbeute,  $\sigma_A$  [cm<sup>-1</sup>] Rückstoßkoeffizient des Compton-Prozesses ist.

Die von der benutzten Röntgenröhre gelieferte Strahlung erstreckt sich über den Bereich von 4—60 keV, wobei der Hauptanteil in dem Gebiet 5—15 keV (hauptsächlich L Strahlung von W) liegt<sup>1</sup>. In diesem Bereich spielt der Compton-Effekt (unter 1%) keine Rolle, so daß man  $\sigma_A = 0$  setzen kann. Die Photoelektronenausbeute  $\alpha$  ist nahezu 1. Fernerhin besteht die Beziehung

<sup>1</sup> JÄGER, R., u. W. KOLB: Sonderbände zur Strahlenther. 35, 285 (1956).

$\mu = \tau + \sigma$ , wobei  $\sigma = 0,2$  der Koeffizient der klassischen Streuung ist. Mit den eingeführten Werten ergibt sich aus der Gl. (1):

$$E_e = E_0 \left[ 1 - e^{-\frac{\mu \cdot G}{\rho \cdot \pi \cdot R^2}} \right] \cdot \frac{\mu - 0,2}{\mu} \quad (2)$$

wobei  $G$  [g] das Gewicht des bestrahlten Muskelbreies,  $\rho$  [g/ml] seine Dichte,  $R$  [cm] der Radius des Bestrahlungsfeldes sind.

Der Schwächungskoeffizient  $\mu$  wurde durch Messung der Intensität mit Muskelbreischicht ( $I_2$ ) und ohne dieselbe ( $I_1$ ) bestimmt. Sein Wert ergibt sich aus der Beziehung:

$$\mu = \frac{\ln I_1 - \ln I_2}{d} \quad h_{Halbw.} = \frac{0,69}{\mu} \text{ [cm]} \quad (3)$$

Diese Beziehung gilt exakt nur für monochromatische Strahlung. Bei inhomogener Strahlung, wie sie bei uns vorlag, wird  $\mu$  mit zunehmender Schichtdicke kleiner. Die nach Gl. (3) ermittelte Konstante  $\mu$  ist hier nur als Mittelwert für das Strahlungsspektrum im Bereich der von uns benutzten Schichtdicken aufzufassen.

Der überwiegende Teil der von der benutzten Röntgenröhre gelieferten Strahlung ist sehr weich. An dünnen Plexiglasscheiben durchgeführte Absorptionsmessungen ergaben eine Halbwertsschicht von etwa 1 mm. Die von uns benutzten Muskelbreischichten mußten von ähnlicher Stärke gewählt werden, einmal um nicht zu inhomogen bestrahlte Substanz zu erhalten und um eine „Aufhärtung“ der Strahlung zu vermeiden. Die für die Versuche erforderlichen dünnen Schichten wurden durch Einfüllen und Glattstreichen einer entsprechenden Menge Muskelbrei in die auf Abb. 1 dargestellte Schale erhalten. Durch einen mit Folie abgedeckten Stempel wurde der Muskelbrei leicht angedrückt, so daß der überschüssige Brei in die Kerben des Bodenringes übertrat und dort sorgsam entfernt wurde. Die Höhe der Breischicht betrug  $\sim 1,4$  mm. In ähnlicher Weise wurden Muskelbreischichten zur Bestimmung des Schwächungskoeffizienten  $\mu$  hergestellt, nur bestand hierbei der Boden der Schale aus einer  $25 \cdot 10^{-3}$  mm Hostaphanfolie. Dieses Verfahren wurde sowohl bei dem Muskelbrei mit normalem Wassergehalt als auch bei dem gefriergetrockneten Material angewendet. Durch die Zusammendrückbarkeit des letztgenannten Materials ergaben sich kleinere Schwankungen in der Dichte, die dadurch berücksichtigt wurden, daß der Schwächungskoeffizient bei verschiedenen Dichten bestimmt wurde und für jede Probe der entsprechende Wert von  $\mu$  zur Berechnung der absorbierten Dosis benutzt wurde.

Da die Versuchsschalen eben und nicht kugelig gekrümmt waren, war die Dosis an den äußeren Teilen des Bestrahlungsfeldes geringer als in der Mitte. Bei der Ermittlung der Dosis wurde dieser Unterschied nicht berücksichtigt.

## Ergebnisse

### a) Versuche unter Luft

Die im frischen Zustand rötlich gefärbte Muskulatur zeigte nach Bestrahlung mit Dosen von 10 Mega r ( $1 \cdot 10^6$  r = 1 Mega r) an der Oberfläche eine sandfarbene bis graue Färbung. Darunter war sie etwas blasser geworden; lediglich die unterste Lage der etwa 1,4 mm dicken Schicht hatte normalerweise noch eine leicht rötliche Färbung.

Der Geruch der Proben wurde nach der Bestrahlung selbst bei Einwirkung kleinerer Dosen als ungewohnt fremdartig empfunden. Bei sehr hohen Dosen ( $> 10$  Mega r) wurde er von den Prüfern als fremdartig süßlich verbrannt mit einer an Marinaden oder Tran erinnernden Nuance versehen bezeichnet.

Die angegebenen Geruchsveränderungen deuten sowohl auf Veränderungen der Eiweiße wie der Fette hin. Als ein wesentlicher Bestandteil der fremdartig verbrannt riechenden Stoffe wurde bei bestrahltem Warmblüterfleisch  $H_2S$  gefunden. Geruchsvergleiche lassen vermuten, daß es sich bei einem weiteren Stoff um Methylmercaptan handelt<sup>1</sup>. Als Quellen für diese SH-Verbindungen kommen die Aminosäuren Methionin und Cystein in Betracht<sup>2</sup>. Bei Bestrahlungen mit  $1,6 \cdot 10^6$  rep ( $^{60}Co$ ) wurde in Fleisch ein Rückgang an Glutathion<sup>1</sup> auf etwa die Hälfte der ursprünglichen Menge

<sup>1</sup> BATZER, O. F., u. D. M. DOTY: J. Agric. Food Chem. **3**, 64 (1955).

<sup>2</sup> DALE, W. M., u. J. V. DAVIES: Biochemic. J. **48**, 129 (1951). — DALE, W. M.: J. Chem. Phys. **48**, 245 (1951).

festgestellt. Die bei hohen Dosen auftretende tranige Geruchsnuance in unserem Karpfenmuskelbrei dürfte auf oxydative Vorgänge an den Fetten zurückzuführen sein. Daß bei der Bestrahlung von Fetten Peroxyde gebildet werden, wurde bereits von anderen Autoren gezeigt<sup>1</sup>. GRONINGER und Mitarbeiter fanden, daß bei der Bestrahlung von gemahlenem Schweinefleisch die Peroxydwerte mit zunehmender Bestrahlungsdosis zunahm<sup>2</sup>.

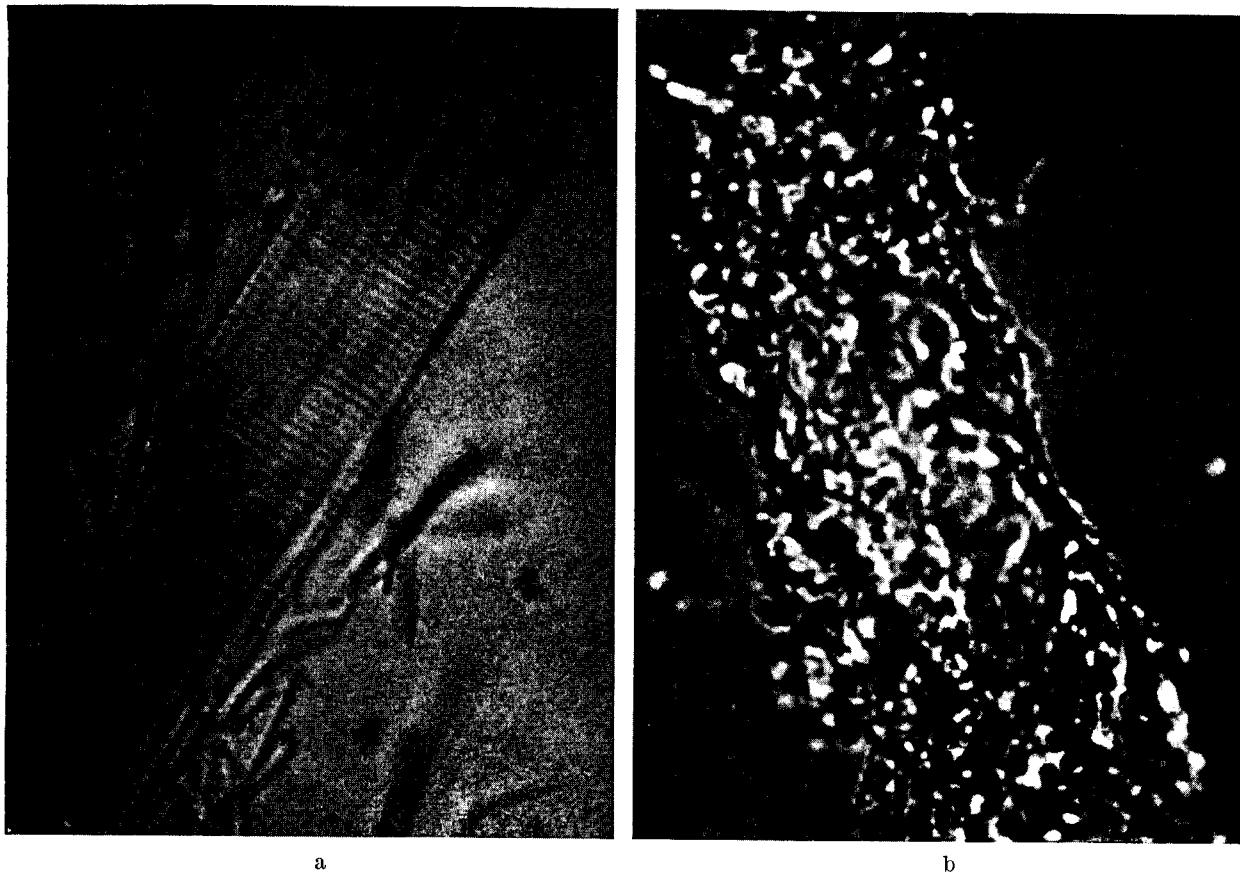


Abb. 4 a u. b. *Fragment einer quergestreiften Muskelfaser aus der Seitenrumpfmuskulatur vom Karpfen (Panphot, Hellfeld, mikroskop. Vergrößerung 200 ×); a) unbestrahlt; b) nach Einwirkung einer Dosis von 17 Mega r*

Während die Konsistenz des Muskelbreies nach kurzzeitiger Bestrahlung unverändert war, war sie nach Einwirkung hoher Dosen gummiartig zäh. Diese Veränderungen können nicht auf den mit zunehmenden Bestrahlungszeiten leicht abnehmenden Wassergehalt zurückgeführt werden, da maximal nur ein Rückgang um 0,6% erfolgte. Sie dürften, wie die Farb- und Geruchsveränderungen, durch die Strahleneinwirkung bedingt sein.

Daß bei Einwirkung hoher Dosen die Struktur des Breies Umwandlungen erfährt, geht auch aus den mikroskopischen Befunden hervor. Die Muskelfaserfragmente hatten den hochorganisierten Strukturzustand der normalen Muskelfaser (Abb. 4a) verloren und boten ein regellos blasiges, im makroskopischen Bereich mit dem Aussehen von Schlacke vergleichbares Bild (Abb. 4b). Ähnliche strukturelle Veränderungen hatten wir schon bei starken Gefrierbrandschäden<sup>3</sup> und nach langer Lagerung von

<sup>1</sup> HANNAN, R. S., u. H. J. SHEPARD: *Brit. J. Radiol.* **27**, 36 (1954). — MEAD, J. F.: *Science (Lancaster, Pa.)* **115**, 470 (1952). — POLING, E. C., W. D. WARNER, F. R. HUMBURG, F. F. REBER, W. M. URBAIN u. E. C. RICE: *Food Res.* **20**, 193 (1956).

<sup>2</sup> GRONINGER, H. S., A. L. TAPPEL u. F. W. KNAPP: *Food Res.* **21**, 555 (1956).

<sup>3</sup> PARTMANN, W.: *Arch. Fischereiwiss.* **6**, 362 (1955).

Fischmuskelbrei bei  $-3,5^{\circ}\text{C}$  festgestellt<sup>1</sup>. Erwartungsgemäß besaßen derartige Faserfragmente, wie der Zusatz von ATP lehrte, kein Kontraktionsvermögen mehr. Eine quantitative Untersuchung zur Ermittlung des Zusammenhanges zwischen Kontraktilität und Strahlendosis ist geplant.

Die auch bei besonders intensiven Formen der Gefrierdenaturierung beobachteten Veränderungen der Feinstruktur legten die Vermutung nahe, daß es unter unseren Bedingungen bei langdauernder Bestrahlung im Muskelbrei zu einer zur Hitze-denaturierung führenden, den gesamten Brei umfassenden Temperaturerhöhung kommen könnte. Wie jedoch die Messung des Temperaturanstiegs im Muskelbrei in Abhängigkeit von der Strahlendosis ergab (Abb. 2), wurde auch bei langen Be-

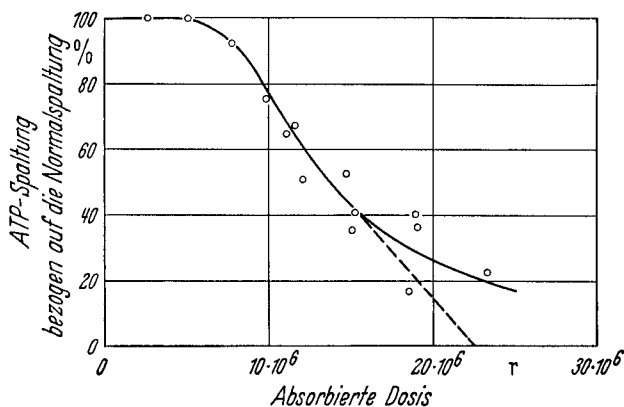


Abb. 5. Abhängigkeit der ATP-Spaltung durch Karpfenmuskelbrei von der Röntgenstrahlendosis in Gegenwart von Luft

aufgetragen. Es ist zu erkennen, daß erst unverhältnismäßig hohe Dosen über 8 Mega r zu einer deutlich erkennbaren Hemmung des Apyrasesystems der Fischmuskulatur führen und die Hälfte der Normalspaltung erst bei etwa 14 Mega r erreicht wird.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe lehren, daß die zur Sterilisierung von Fischfleisch benötigten Dosen von etwa 2—3 Mega r noch zu keiner deutlichen Inaktivierung seines Muskelapyrasesystems führen, obwohl die wesentlich an diesem System beteiligte Myosin-Adenosintri-phosphatase isoliert als relativ stark strahlenempfindlich gilt<sup>2</sup>.

Es erschien nun wünschenswert, in einer zweiten Versuchsreihe nachzuprüfen, ob bei niedrigerer Temperatur und Ausschaltung des Sauerstoffs bzw. des daraus beim Strahlendurchgang gebildeten Ozons als Reaktionspartner noch weit höhere Dosen zur Inaktivierung des Apyrasesystems notwendig sind.

#### b) Versuche unter strömendem Stickstoff

Die unter strömendem Stickstoff und bei Temperierung des Bestrahlungsgefäßes auf  $+18^{\circ}\text{C}$  durchgeführten Versuche ergaben mit denen der ersten Versuchsreihe übereinstimmende Veränderungen in Geruch und Konsistenz. Farbänderungen wurden hierbei bis zu den maximal angewandten Dosen von 33 Mega r nicht festgestellt; allerdings stammt der in dieser Reihe verwandte Karpfenmuskelbrei von einem anderen Tier mit nahezu weißer Seitenrumpfmuskulatur.

<sup>1</sup> PARTMANN, W.: Zit. 327, S. 3.

<sup>2</sup> BARRON, G. E. S., S. DICKMAN, J. A. MUNTZ u. TH. P. SINGER: Zit. S. 328, Anm. 1.



Für die Inaktivierung des Apyrasesystems durch Röntgenstrahlen ergibt sich in dieser Versuchsreihe eine Kurve, die mit der in der ersten Versuchsreihe erhaltenen praktisch übereinstimmt (Abb. 6). So waren ebenfalls nahezu 14 Mega r notwendig, um die enzymatische ATP-Hydrolyse auf 50% der Normalspaltung herabzusetzen. Daraus folgt, daß unter unseren Bedingungen weder die Temperatursenkung noch der Austausch der Luft durch die Stickstoffatmosphäre einen Einfluß auf die Strahlenwirkung gehabt haben.

Durch den Ersatz der Luft durch Stickstoff wird der Gehalt an gelöstem Sauerstoff im Muskelbrei kaum verändert, da die Begasungszeit von relativ kurzer Dauer ist. Jedoch ist hier der Anteil an gelöstem Sauerstoff sehr klein im Vergleich zu demjenigen

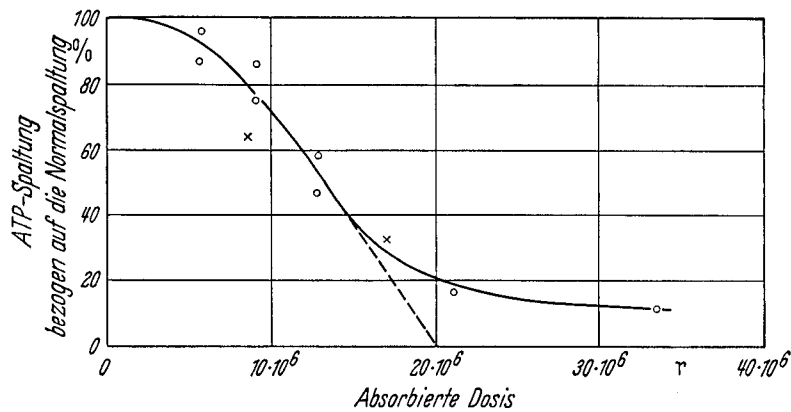


Abb. 6

Abb. 6. Abhängigkeit der ATP-Spaltung durch Karpfenmuskelbrei von der Röntgenstrahlendosis in Gegenwart von Stickstoff  $\times$  zusammenfallende Meßpunkte

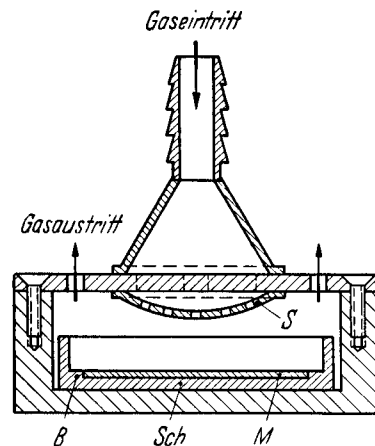


Abb. 7

Abb. 7. Begasungsanordnung. *S* = gelochte Platte zur Gasverteilung, *B* = Bodenring, *Sch* = Schale für den Muskelbrei, *M* = Muskelbrei

in der Luftatmosphäre und für eine eventuelle Ozonbildung zu vernachlässigen. Unterschiedlich war lediglich die Gasatmosphäre bei den beiden Versuchsanordnungen.

Es ist bekannt, daß beim Durchgang weicher Röntgenstrahlen durch Luft Ozon gebildet wird. Aus der Übereinstimmung der Versuchsergebnisse in Gegenwart von Luft und Stickstoff geht hervor, daß die bei der Bestrahlung in der Luftatmosphäre erzeugte Ozonmenge die Apyraseaktivität nicht beeinflußt hat. Experimentell wurde diese Annahme weiterhin dadurch nachgeprüft, daß in der Bestrahlungsvorrichtung nach Abb. 1 lediglich die mit einer Geschwindigkeit von 40 l/Std durchströmende Luft bestrahlt wurde. Diese wurde dann über eine kurze Silikonschlauchverbindung in das die übliche Schale mit der Muskelprobe enthaltende Gefäß geleitet, so daß die Oberfläche des unbestrahlten Muskelbreies lediglich von der bestrahlten Luft bestrichen wurde (Abb. 7). Trotz der langen Bestrahlungszeit von 3 Std blieb die Apyraseaktivität des Muskelbreies voll erhalten. Farbänderungen an der Oberfläche konnten auch hier nicht beobachtet werden, da das Ausgangsmaterial nahezu weiß war.

Daraus ist zu schließen, daß selbst Ozonkonzentrationen, die bei weit über den höchsten von uns angewandten Dosierungen entstehen, noch keine Hemmung des Apyrasesystems bewirken.

Um eine weitere Bestätigung dieses Befundes zu erhalten, wurde Muskelbrei in der gleichen Weise, wie wir ihn für die Bestrahlungsversuche verwandten, steigenden Ozonkonzentrationen ausgesetzt. Die in die Bestrahlungsschale eingefüllte Muskulatur wurde in das in Abb. 7 dargestellte Gefäß gebracht und die Zuleitung über einen

kurzen Silikonschlauch mit einem Ozonisator verbunden. Das eintretende Ozon wird über die gelochte Platte nahezu gleichmäßig über die freiliegende Oberfläche des Muskelbreies geleitet und strömt durch die kleinen, in ihrem Gesamtquerschnitt mit dem der Einströmungsöffnung übereinstimmenden Löcher nach außen.

Wie die in Tab. 1 zusammengestellten Werte erkennen lassen, hemmen in der angewandten Anordnung Ozonkonzentrationen, die auch in der Größenordnung weit über die in der Technik für die Lebensmittellagerung angewandten hinausgehen, das Apyrase-system der Muskulatur nicht meßbar.

Tabelle 1. *Einwirkung von Ozon auf die ATP-Spaltung von Karpfenmuskulatur*  
Einwirkungszeit 30 min, Oberfläche der Muskelprobe 16.3 cm<sup>2</sup>

Ozon-Konz. mg/m <sup>3</sup>	Strömungs- geschwindigkeit l/min	Gewicht der Muskelprobe in g	ATP-Spaltung bezogen auf Normalspaltung %
80	4	2,73	99
1 800	0,2	2,74	93
2 100	0,2	2,75	101
2 100	0,2	2,72	104
12 400	0,2	2,80	103

Bekanntlich werden bei der Vorratshaltung von Lebensmitteln Konzentrationen zwischen 1—10 mg/m<sup>3</sup> benutzt. Konzentrationen von 1 mg Ozon/m<sup>3</sup> sind geruchlich gut wahrnehmbar. Die bei unseren Bestrahlungsversuchen in Gegenwart von Luft aufgetretenen Ozonkonzentrationen

bewegten sich in der Größenordnung von 1—2 mg/m<sup>3</sup>.

Die Ergebnisse dieser Versuche bestätigen somit die aus der Übereinstimmung der Inaktivierungskurve in Gegenwart von Luft und Stickstoff gezogenen Schlüsse. Es ist jedoch möglich, daß die Myosinadenosintriphosphatase unter anderen Versuchsbedingungen empfindlicher gegen Ozon ist.

### c) *Versuche mit gefriergetrocknetem Material*

Es wird allgemein angenommen, daß bei der Bestrahlung von Enzymen die Wirkung in wäßriger Lösung komplexer ist als in trockenem Zustand<sup>1</sup>. Zu der direkten Strahlenwirkung gegen einen besonders empfindlichen Punkt des Enzymmoleküls kommt hier noch ein indirekter Mechanismus, der — wie in der Einleitung gezeigt wurde — darauf beruht, daß durch Bestrahlung im Wasser freie Radikale sowie H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gebildet werden, die ihrerseits mit irgendwelchen Gruppen reagieren<sup>2</sup>. Mit diesen Erfahrungen stimmt überein, daß wasserreiche Zellen und Gewebe im allgemeinen wesentlich strahlenempfindlicher sind als solche, die nur einen geringen Wassergehalt besitzen<sup>3</sup>.

Es schien daher naheliegend anzunehmen, daß das Apyrasesystem der gefriergetrockneten Fischmuskulatur mit einem Wassergehalt von wenigen Prozent wesentlich resistenter gegen Bestrahlung sein würde als das der normalen mit einem Wassergehalt von etwa 80%.

Vorversuche, die sich über einen Zeitraum von mehreren Monaten hinzogen, ergaben, daß die Apyraseaktivität des auf ~ 3% Wassergehalt gefriergetrockneten und bei + 4° C gelagerten Fischmuskelbreipulvers beträchtlich abnahm. Außerdem wurde deutlich, daß die Apyraseaktivität des gefriergetrockneten Materials entgegen

<sup>1</sup> GLENN, J.: Radiation sterilization project, Quartermaster food and container Institute for the armed forces, Research and Development Command Quartermaster Corps, US Army, February 1955, S. 58.

<sup>2</sup> ALLEN, A. V.: Zit. S. 329, Anm. 1.

<sup>3</sup> LANGENDORFF, H.: Sonderbände zur Strahlentherap. 35, 148 (1955).

unserer Annahme wesentlich empfindlicher gegen die Einwirkung von Röntgenstrahlen war als die der Muskulatur mit normalem Wassergehalt.

Um auch quantitativ einen klareren Einblick in Art und Ursache der beobachteten Veränderungen zu erhalten, wurde auf einen Wassergehalt von 3,4% gefriergetrocknetes Material unmittelbar nach dem Trocknungsprozeß in drei Partien geteilt. Eine davon wurde gleich in die für die Einzelversuche notwendigen Portionen geteilt und bei  $-24^{\circ}\text{C}$  gelagert. Innerhalb von 14 Tagen wurden die für dieses Gut vorgesehenen Bestrahlungsversuche durchgeführt. Durch Messung am Ende dieser Reihe wurde gesichert, daß die Enzymaktivität nicht abgesunken war und noch den Wert der frischen Muskulatur besaß. Die beiden anderen Anteile des gefriergetrockneten Materials wurden bei  $+20^{\circ}\text{C}$  über 7 Wochen gelagert. Die Atmosphäre des Lagergefäßes enthielt in einem Fall Luft und im anderen Stickstoff.

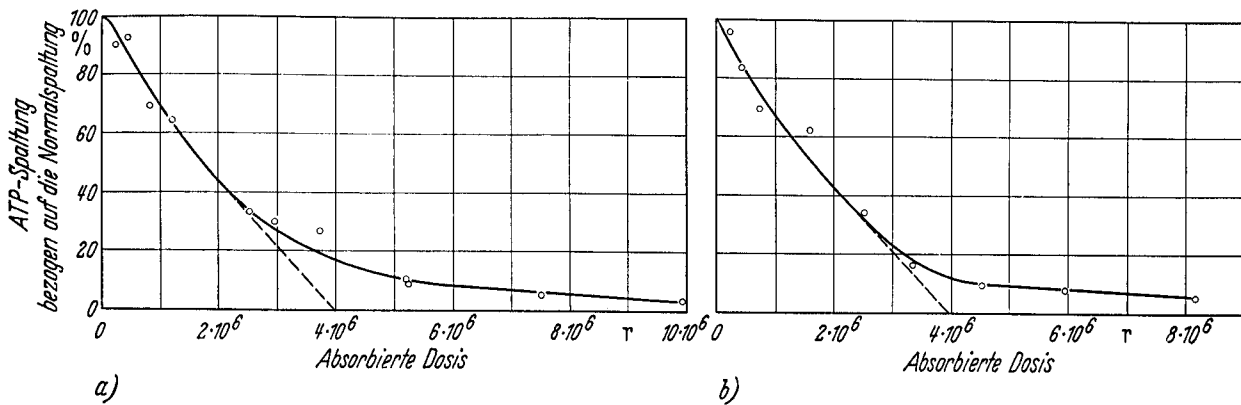


Abb. 8. Abhängigkeit der ATP-Spaltung durch gefriergetrockneten Karpfenmuskelbrei von der Röntgenstrahlendosis. (Wassergehalt 3,4%); a) unmittelbar nach der Gefriertrocknung; b) nach 7wöchentlicher Lagerung in Luft bei  $20^{\circ}\text{C}$

Die Ergebnisse der Bestrahlungsreihe unmittelbar nach der Gefriertrocknung sind in Abb. 8a dargestellt. Wie die Versuche zeigen, ist die Strahlenempfindlichkeit des gefriergetrockneten Materials erheblich größer als die des Fischmuskelbreies mit normalem Wassergehalt geworden. Die Halbwertsdosis beträgt nur noch 1,7 Mega r. Einen Dosisbereich, in dem die ATP-Spaltung gleich der Normalspaltung ohne Einwirkung von Röntgenstrahlen ist, kann man kaum noch erkennen.

Der in Luft bei  $+20^{\circ}\text{C}$  gelagerte, gefriergetrocknete Fischmuskelbrei zeigte nach 7 Wochen nur noch eine Apyrasewirksamkeit von 65%, bezogen auf die Aktivität der Ausgangssubstanz. Damit kein weiterer Abfall eintrat, wurden die für diese Versuchsreihe vorgesehenen Proben von Beginn der Bestrahlungsversuche an bei  $-24^{\circ}\text{C}$  gelagert. Außerdem wurde auch hier die ATP-Spaltung einer unbestrahlten Probe am Ende dieser Bestrahlungsreihe gemessen. Sie war innerhalb der Streuung konstant geblieben. Setzt man die ATP-Spaltung der bei  $+20^{\circ}\text{C}$  gelagerten gefriergetrockneten Muskulatur ohne Strahleneinwirkung gleich 100%, so lassen sich die Ergebnisse der Bestrahlungsversuche durch die in Abb. 8b gezeigte Kurve darstellen. Die Halbwertsdosis ist wieder 1,7 Mega r und die Kurve stimmt, wenn man die methodisch bedingte Streuung der Meßpunkte berücksichtigt, mit der in Abb. 8a gezeigten überein.

Die ATP-Spaltung der in Stickstoff bei  $+20^{\circ}\text{C}$  gelagerten, gefriergetrockneten Versuchsproben betrug nach einer Lagerzeit von 7 Wochen noch 81% derjenigen der Ausgangssubstanz. Auch nach weiteren 3 Wochen blieb dieser Wert konstant. Es ist daher anzunehmen, daß bei der Aktivitätsabnahme neben der Temperaturwirkung oxydative Vorgänge eine Rolle spielen. Der Fischmuskelbrei wird durch die Gefriertrocknung sehr porös, und die starke Vergrößerung der wirksamen Oberfläche dürfte

ihre vermehrte Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff bedingen. TAPPEL<sup>1</sup> beobachtete bei der Lagerung von gefriergetrocknetem Rindfleisch ebenfalls oxydative Veränderungen.

Weiterhin wurde die Frage geprüft, ob nach der Bestrahlung von gefriergetrockneter Fischmuskulatur mit hohen Dosen Reaktivierungsvorgänge zu erwarten sind. Zu

Tabelle 2. ATP-Spaltung durch gefriergetrockneten Karpfenmuskelbrei sogleich und 24 Std nach der Bestrahlung

Datum	absorbierte Dosis in Mega r	ATP-Spaltung bezogen auf die Normalspaltung	
		sofort nach der Bestrahlung %	24 Std nach der Bestrahlung %
15. I. 1957	19,0	6,9	3,2
17. I. 1957	9,5	14,5	12,7
22. I. 1957	4,8	18,0	21,2
24. I. 1957	2,3	43,3	45,9

diesem Zweck wurde bei einem Teil des bis auf einen Wassergehalt von etwa 5% gefriergetrockneten und 2 Monate bei +4° C gelagerten Materials unmittelbar nach der Bestrahlung die Größe der ATP-Spaltung ermittelt. Mit dem Rest wurde die enzymatische ATP-Hydrolyse erst 24 Std später vorgenommen. Wie die in Tab. 2 zusammengestellten Werte erkennen lassen, ergeben sich keine Hinweise für Reaktivierungen in-

nerhalb des genannten Zeitraumes, der für unsere Versuche von Wichtigkeit war. Die Differenzen bei den Bestimmungen liegen im normalen Streubereich der Messungen der enzymatischen ATP-Hydrolyse.

### Diskussion

Wie der Verlauf der in den Abb. 5 und 6 gezeigten Schädigungskurven erkennen läßt, handelt es sich um typische S-Kurven, wie sie bei Einwirkung energiereicher Strahlen auf kompliziertere biologische Systeme häufig erhalten werden. Sie sind, wenn über die Anzahl der Treffbereiche nichts bekannt ist, wie in unserem Fall, nur in beschränktem Maß einer treffertheoretischen Deutung zugänglich.

Setzen wir voraus, daß jede der bestrahlten Einheiten des Apyrasesystems nur einen einzigen formalen Treffbereich aufweist, so ergibt sich aus der Tangentenrichtung bei der Halbwertsdosis  $E_{1/2}$  für die Trefferanzahl  $n$  aus  $f(n) = 0,93$  der Wert  $n = 5$  bis 6. Zur Berechnung des formalen Treffbereiches  $v$  kann die Formel  $v = (n - 1/3)/E_{1/2}$  für  $n > 2$  benutzt werden. Für  $v$  ergibt sich  $2,3 \cdot 10^{-19} \text{ g}^2$ .

Unter der gleichen Voraussetzung erhält man für die gefriergetrocknete Muskulatur als Trefferanzahl 1.

Vermutlich lassen die gezeigten Inaktivierungskurven aber nicht eine so einfache Deutung zu, da an der ATP-Spaltung durch die Fischmuskulatur zu Adenosinmonophosphat neben der Actomyosinadenosintriphosphatase und zu einem kleinen Teil der Mg-aktivierbaren Adenosintriphosphatase von KIELLEY und MEYERHOF auch die Myokinase beteiligt ist. Außerdem wird von BARRON und Mitarbeitern darauf hingewiesen, daß bei größeren Dosen von Röntgenstrahlen, wie sie hier vorliegen, ein komplizierterer Wirkungsmechanismus in Erscheinung tritt als bei kleineren<sup>3</sup>. Bei kleineren Strahlendosen scheinen die direkt und indirekt über die Radikalbildung erfolgenden Oxydationswirkungen speziell die freien SH-Gruppen der Proteine zu betreffen. Bei höheren Dosen dürften dazu noch zur Denaturierung und Zerstörung des Moleküls führende Vorgänge kommen<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> TAPPEL, A. L.: Food Res. **21**, 195 (1956).

<sup>2</sup> TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N. W., u. K. G. ZIMMER: Zit. S. 328, Anm. 2.

<sup>3</sup> BARRON, G. E. S., S. DICKMAN, J. A. MUNTZ u. TH. P. SINGER: Zit. S. 328, Anm. 1.

<sup>4</sup> BARRON, G. E. S., u. SH. DICKMAN: J. Gen. Physiol. **32**, 595 (1949).

Die im Vergleich zur normalen Muskulatur größere Strahlenempfindlichkeit des gefriergetrockneten Materials läßt folgende Deutung zu:

Die frische Fischmuskulatur enthält zu 80% Wasser. Der größte Teil der Treffer reagiert mit den Wassermolekülen unter Bildung von Radikalen und angeregten Atomen. Diese wirken offenbar nicht in dem Maße schädigend auf das Apyrasesystem ein wie die direkten Treffer in dem gefriergetrockneten Muskelbrei. Damit stimmt überein, daß in der frischen Muskulatur im Vergleich zur gefriergetrockneten eine um den Faktor von etwa 5 höhere Trefferanzahl ermittelt wurde.

Darüber hinaus dürfte die unerwartet geringe Strahlenresistenz nach Gefrier Trocknung durch die bei der Trocknung komplexer Systeme auftretende Veränderung in der Zusammensetzung bedingt sein. Ein so weitgehender Wasserentzug, wie er im gefriergetrockneten Material vorliegt, muß z. B. zu einer starken Zunahme der Ionenkonzentration führen. Es ist bekannt, daß ein Zusatz von Elektrolyten zu Proteinlösungen den Denaturierungsprozeß bei der Bestrahlung beschleunigt<sup>1</sup>.

Außerdem deuten unsere Befunde darauf hin, daß bis auf 2 bis 3% Wassergehalt gefriergetrocknete Fischmuskulatur ohnehin ein relativ labiles Produkt ist. In diesem Zusammenhang verdient der Befund von RIEDEL besondere Beachtung, daß in der mageren Fisch- und Säugetiermuskulatur etwa 8% des Gesamtwassers fest gebunden sind<sup>2</sup>. Die Umrechnung über den Eiweißgehalt der Gewebe ergab, daß aus einem Aminosäurerest 2 Moleküle gebundenes Wasser entfallen<sup>3</sup>.

Es ist vorstellbar, daß ein diese 8% überschreitender Wasserentzug wesentlich die Labilität des Produktes mitbedingt. Die hiermit zusammenhängenden Probleme sollen weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

### *Zusammenfassung*

Die ATP-Spaltung durch das Apyrasesystem des Fischmuskelbreies nach Einwirkung weicher Röntgenstrahlen wurde in Abhängigkeit von der absorbierten Dosis untersucht. Da im durchstrahlten Luftraum Ozon entsteht, wurde die Versuchsserie unter gleichen Bedingungen in strömendem Stickstoff wiederholt.

Es wurden zwei innerhalb der Fehlergrenzen der Methode übereinstimmende Kurven erhalten. Bis zu einer Dosis von 8 Mega r wurde die enzymatische ATP-Hydrolyse nicht gehemmt, um dann in einem weiteren Dosisintervall von etwa 14 Mega r bis auf 10 bis 15% abzusinken. Die Halbwertsdosis betrug etwa 14 Mega r.

Das bei der Bestrahlung gebildete und hauptsächlich an der Oberfläche der Probe wirkende Ozon beeinflusste das Apyrasesystem nicht. Auch durch stille Entladungen ozonisierte Luft mit einem um den Faktor 5000 vergrößerten Gehalt an Ozon zeigte bei gleicher Schichtdicke keine Hemmwirkung.

Deutet man die erhaltenen S-förmigen Schädigungskurven nach der Treffertheorie unter der Annahme eines formalen Treffbereichs, so sind 5 bis 6 Treffer notwendig, bis eine Reaktion eintritt. Bei frischem Fischmuskelbrei ergab sich ein Treffbereich von  $2,3 \cdot 10^{-19}$  g.

Die für gefriergetrocknete Fischmuskulatur aufgenommenen Schädigungskurven unterschieden sich von denen der frischen Muskulatur durch das Fehlen des Plateaus am Anfang der Kurve. Die Ergebnisse lassen eine Deutung als Eintreffervorgang zu. Für den formalen Treffbereich errechnet sich im Mittel ein Wert von  $2,5 \cdot 10^{-19}$  g.

<sup>1</sup> ISE, CH. M., u. S. W. FOX: Research and Development Command. Quartermaster Corps US Army, February 1955 (Review of the literature in selected fields S. 1—16).

<sup>2</sup> RIEDEL, L.: Kältetechnik 8, 374 (1956); 9, 38 (1957).

<sup>3</sup> RIEDEL, L.: Naturwiss. 43, 514 (1956).

Das Apyrasesystem der auf etwa 3% Wassergehalt gefriergetrockneten Fischmuskulatur ist wesentlich strahlenempfindlicher als dasjenige der frischen Fischmuskulatur. Die Halbwertsdosis beträgt nur 1,7 Mega r.

Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, daß die zur Strahlensterilisation von Fischfleisch benötigten Dosen von 2 bis 3 Mega r noch zu keiner deutlichen Inaktivierung des Muskel-Apyrasesystems führen. Sie lassen vermuten, daß die Sterilisation von Frischfisch mit energiereichen Strahlen als ein schonendes Konservierungsverfahren angesehen werden kann. Es bleibt aber abzuwarten, ob weitere Untersuchungen der chemisch-biologischen Veränderungen an bestrahlter Fischmuskulatur diese Befunde bestätigen.