

Versuche zum Nachweis einer erfolgten Bestrahlung von Kartoffeln

II. Bestimmung der Chlorogensäure*

HANS PENNER und HARTMUT FROMM

Mitteilung aus dem Institut für Strahlentechnologie der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelrisikohaltung, Karlsruhe (BRD)

Eingegangen am 26. Juni 1972

Studies on the Identification of Irradiated Potatoes

II. Determination of Chlorogenic Acid

Summary. A quantitative method for the direct determination of chlorogenic acid on thin-layer plates by use of a programmable calculator is described. The content of chlorogenic acid in irradiated potatoes immediately rises after irradiation and returns to normal within several weeks. The identification of irradiated potatoes was only possible within a few days after irradiation and only in comparison with non irradiated potatoes of the same lot.

Zusammenfassung. Es wird über eine quantitative Direktbestimmung von Chlorogensäure auf Dünnschichtplatten unter Verwendung eines programmierbaren Tischrechners berichtet. Der Chlorogensäuregehalt in bestrahlten Kartoffeln steigt unmittelbar nach der Bestrahlung an und normalisiert sich wieder im Verlauf einiger Wochen. Der Nachweis einer erfolgten Bestrahlung ist nur innerhalb weniger Tage und nur bei Vorliegen einer Vergleichscharge möglich.

Einleitung

Die Behandlung von Kartoffeln mit ionisierenden Strahlen zum Zwecke der Verhinderung des Auskeimens wurde in der UdSSR, in Kanada, USA, Israel, den Niederlanden, Dänemark und Spanien gesetzlich zugelassen. Dieser Umstand läßt es wünschenswert erscheinen, Methoden zur Identifizierung bestrahlter Kartoffeln zu entwickeln.

Für die Kartoffelbestrahlung werden Dosen von 8–15 krad angewendet. Hierbei bilden sich strahlenchemische Reaktionsprodukte in so geringer Menge, daß ihr Nachweis mit heutigen Analysenmethoden nicht gelingt. Jedoch erfolgt im angegebenen Dosisbereich eine Beeinflussung von physiologischen Vorgängen, die ihrerseits zu meßbaren Veränderungen führen. Beispielsweise läßt sich das Ausbleiben der Wundperidermbildung bei bestrahlten Kartoffeln in begrenztem Umfang zum Nachweis einer Bestrahlung ausnutzen [1]. Zu den Stoffwechselfvorgängen, die durch keimhemmende Bestrahlungsdosen beeinflußt werden, gehört die Bildung von Phenolen. Von diesen Stoffen spielt die Chlorogensäure eine wichtige Rolle. Ihr Vorkommen in

Tabelle 1. Chlorogensäuregehalt der Kartoffel

Probe	Chlorogensäure in mg/100 g	Literatur
ganze Kartoffeln	6–32	[2]
ganze Kartoffeln	4	[3]
Schale	40–77	[4]
Schale	30–167	[2]
Schale	33	[5]
Schale	26	[6]
Parenchym	3	[7]
Parenchym	7	[8]
Parenchym	8–12	[9]
Parenchym	19	[5]
Parenchym	4	[6]

* Die Arbeit wurde durchgeführt im Rahmen des Euratom-Forschungsauftrages 032-67-4 „Meßbare Veränderungen in bestrahlten Lebensmitteln“. I. Mitteilung [1].

der Kartoffel wurde eingehend untersucht (Tab. 1). Kuzin u. Mitarb. [10] sowie Ogawa u. Mitarb. [3] fanden einen erhöhten Chlorogensäuregehalt in bestrahlten Kartoffeln. In dieser Arbeit wird untersucht, inwieweit der Chlorogensäuregehalt als Indiz für eine erfolgte Bestrahlung dienen kann.

Zur Bestimmung der Chlorogensäure wurde von Ibrahim [11] eine Methode zur Direktbestimmung auf Dünnschichtplatten mittels Remissionsmessung beschrieben. Wir verwendeten ebenfalls diese Methode, jedoch unter Benutzung eines anderen Trennsystems und eines programmierbaren Tischrechners für die Auswertung.

Versuchsteil

Material. Kartoffeln der Sorte Bintje aus Holland sind ab November 9 bzw. 10 Monate bei 4° C und 90% Rel. Feuchte gelagert worden und waren nur sehr schwach gekeimt. Nach der Lagerzeit wurden die Kartoffeln mit Elektronen am Linearbeschleuniger bestrahlt (Dosis 15 krad) und anschließend bis zur Untersuchung wieder in den 4° C-Lagerraum gebracht. In einem weiteren Versuch wurden ebenfalls Kartoffeln der Sorte holländische Bintje im November teils mit 8,5 krad Co⁶⁰-Gammastrahlen, teils mit 10 mg/kg Chlorpropham/Propham behandelt und 8 Monate bei 10° C gelagert.

Methoden. Zur Bestimmung der Chlorogensäure jeweils eine Kartoffelknolle auswiegen und mit 200 ml Methanol im Mixer zerkleinern. Das Homogenat abnutschen und zweimal mit je 20 ml Methanol waschen. Das vereinigte Filtrat im Rotationsverdampfer auf etwa 20 ml einengen, mit Chloroform ausschütteln und nochmals auf etwa 5 ml einengen. Den konzentrierten Extrakt in einen 10 ml-Meßkolben überführen und auf 10 ml mit Methanol auffüllen. Den Inhalt des Meßkolbens nach Abzentrifugieren für die Chromatographie verwenden. Einengung mittels Rotationsverdampfer in einem Rundkolben mit angesetztem Ablaßhahn.

Zur Chromatographie 3 × 2 µl Extrakt auf eine Cellulose-Dünnschicht-Fertigplatte (Merck) 10 × 20 cm mit einer Hamilton-Spritze auftragen. Als Fließmittel n-Propanol/Wasser (80 + 20) verwenden. Unmittelbar nach Trocknen im CO₂-Strom die Platten im Spektralphotometer PMQII (Zeiss) mit Densitometerzusatz bei 328 nm in Remission messen. Die Remission-Ort-Kurve wurde mit einem Linearschreiber aufgezeichnet. Die Flächenintegrale der Peaks wurden angenähert durch das Produkt Halbwertsbreite × Höhe bestimmt. Aus den 3 Peakflächen einer Platte wurde der Mittelwert gebildet, welcher der Auswertung zugrunde gelegt wurde. Auswertung mittels einer Eichkurve. Lösung von Chlorogensäure in 50% igen Methanol. Auf einer 10 × 20 cm-Platte 3mal 2 µl Chlorogensäurelösung einer Konzentration von 0,5 g/l auftragen. Auf einer zweiten Platte 3mal 2 µl der Konzentration 1 g/l und auf einer dritten Platte 3mal 2 µl der Konzentration 1,5 g/l auftragen. Für jede Platte wurde der Mittelwert der 3 Chlorogensäurepeak-Flächen gebildet. Aus den 3 erhaltenen Wertepaaren Peakfläche-Chlorogensäuremenge wurde mittels eines programmierbaren Tischrechners eine Regressionskurve für die Potenzfunktion $y = ax^b$ (y = Substanzmenge, x = Peakfläche) berechnet¹. Einsetzen der Peakflächen der chromatographierten Extrakte in die Regressionskurve ergab die Chlorogensäuremenge, die in 2 µl aufgetragenem Extrakt enthalten ist. Die Berechnung des Chlorogensäuregehaltes der Kartoffel erfolgt nach:

$$K = \frac{100 \cdot V \cdot m}{E \cdot v}$$

K = Konzentration Chlorogensäure in mg/100 g Frischgewicht, E = Einwaage in g, V = Analysenvolumen in ml, v = aufgetragenes Volumen in µl, m = gefundene Menge Chlorogensäure in µg.

Ergebnisse und Diskussion

Dünnschichtchromatographische Trennsysteme für Chlorogensäure an selbstbeschichteten Platten wurden mehrfach beschrieben [4–8]. Außerdem berichteten Lehmann u. Mitarb. [16] über eine quantitative Chlorogensäurebestimmung durch Elution von DC-Platten und Heimann u. Mitarb. [17] über eine dünnschichtchromatographische Bestimmung nach Hydrolyse mit nachfolgender Trennung und Elution der Kaffeesäure. Wir fanden, daß sich für Remissionsmessungen industrielle Cellulose-Fertigplatten wegen der größeren Homogenität besser eignen als selbstbeschichtete Platten. Aus einer Anzahl von Fließmittel-Gemischen wurde das System n-Propanol/Wasser (80 + 20) ausgewählt.

Zur Fehlerabschätzung der Methode wurde der Gehalt einer Chlorogensäure-Lösung von bekannter Konzentration bestimmt. Die Bestimmung wurde zweimal wiederholt. Die wiedergefundene Chlorogensäuremenge betrug 90%, 112% und 109%.

¹ Wir danken Herrn Dr. Th. Grünwald für die Programmierung der Regressionskurve sowie Fräulein Hertha Göttig und Frau Ilse Trömel für die gewissenhafte Durchführung der Versuche.

Der Mittelwert weicht um 3% vom theoretischen Wert ab. Durch Mehrfachbestimmungen auf verschiedenen Platten läßt sich die Genauigkeit der Methode erhöhen, da die Fertigplatten untereinander verschiedene Schichtdicken besitzen. In einem weiteren Versuch wurde der Gehalt einer Chlorogensäurelösung unbekannter Konzentration bestimmt. 4 Messungen ergaben im Mittel $0,983 \pm 0,034 \mu\text{g}$, was einem Fehler von 3,4% entspricht.

Tabelle 2. Chlorogensäuregehalt bestrahlter Kartoffeln

Sorte	Gesamte Lagerdauer Monate	Behandlung	Lagerdauer nach Bestrahlung	Chlorogensäure mg/100 g Frischgewicht	Streuung %	Anzahl der Messungen
Bintje	10	—	—	$17,8 \pm 2,6$	20	7
Bintje	10	15 krad	5 Wochen	$16,0 \pm 2,0$	13	6
Bintje	10	15 krad	4 Tage	$26,3 \pm 5,7$	22	8
Bintje	9	CIPC	9 Monate	$10,1 \pm 3,0$	30	7
Bintje	9	8,5 krad	9 Monate	$10,9 \pm 3,3$	30	6

Die Versuchsergebnisse sind in Tab. 2 dargestellt. Bei 10 Monate gelagerten Kartoffeln bewirkten 15 krad nach 4 Tagen einen Chlorogensäureanstieg um 48%. Die Signifikanz beträgt 99,7%. Dieses Ergebnis stimmt mit den Angaben in der Literatur überein, wonach 15 krad nach 24 Std einen Chlorogensäureanstieg in der Kartoffelschale um 50% bewirkten [2]. Bei einer Dosis von 10 krad wurde nach 10 Tagen ein Anstieg um 26% beobachtet [3] und bei 10 krad nach 4–10 Tagen ein Anstieg im Parenchym um 66% und in der Schale um 42% [6]. Nach einem Zeitraum von 5 Wochen bzw. 9 Monaten nach der Bestrahlung fanden wir keinen Einfluß auf den Chlorogensäuregehalt.

Hieraus läßt sich schließen, daß unmittelbar nach der Bestrahlung mit keimhemmenden Dosen eine Neubildung von Chlorogensäure einsetzt. Diese ist umso stärker, je ärmer das Gewebe ursprünglich an Chlorogensäure war. Im Verlauf einiger Wochen nach der Bestrahlung erfolgt eine Normalisierung des Chlorogensäuregehalts. Diese Vorgänge sind vergleichbar mit der Strahlenwirkung auf den Zuckerstoffwechsel der Kartoffel. Innerhalb der ersten 8 Tage bewirkt die Bestrahlung mit 8 krad einen starken Anstieg des Saccharosegehaltes, der sich nach Überschreiten eines Maximums im Verlauf von 1–3 Monaten wieder normalisiert [18]. Eine weitere Parallele des Chlorogensäure- und Zuckerstoffwechsels besteht in der Reaktion auf Kältereize. Eine Erniedrigung der Lagertemperatur von 10°C auf 4°C bewirkt bei Kartoffeln eine signifikante Erhöhung des Chlorogensäuregehaltes [19]. Hasegawa u. Mitarb. [20] fanden bei 2 Kartoffelsorten nach 4 Wochen Lagerung bei 4°C einen Chlorogensäureanstieg um 50 bzw. 65%. Außerdem stellten sie fest, daß Glucose, Fructose und Saccharose die Chlorogensäure-Synthese in Gewebeschnitten der Kartoffel stimulieren. Möglicherweise lösen Kälteschock und Bestrahlung bei der Kartoffel ähnliche Stoffwechselreaktionen aus, die über einen Anstieg des Zuckergehaltes die Chlorogensäure-Biosynthese stimulieren.

Unsere Untersuchungen zeigten, daß der Chlorogensäuregehalt von Knolle zu Knolle stark schwankt. Die Lagerungsbedingungen und die Kartoffelsorte haben ebenfalls einen Einfluß auf den Chlorogensäuregehalt der Kartoffeln. Demgemäß sind auch die Literaturangaben über den Chlorogensäuregehalt der Kartoffeln sehr unterschiedlich (Tab. 1). Hieraus ergibt sich, daß dem Nachweis einer erfolgten Bestrahlung durch Bestimmung des Chlorogensäuregehaltes enge Grenzen gesetzt sind:

1. Der Nachweis ist nur innerhalb einer Woche nach der Bestrahlung möglich.
2. Der Nachweis ist nur möglich bei Vorliegen einer Vergleichscharge.

Literatur

1. Penner, H.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **144**, 99 (1970).
2. Hunter, A. S., Heisler, E. G., Siciliano, J.: Food Res. **22**, 648 (1957).
3. Ogawa, M., Majima, R., Uritani, I.: Plant Cell Physiol. (Tokyo) **9**, 511 (1968).
4. Johnson, G., Schaal, L. A.: Science **115**, 627 (1952).
5. Mapson, L. W., Swain, T., Tomalin, A. W.: J. Sci. Food Agr. **14**, 673 (1963).
6. Ogawa, M., Hyodo, H., Uritani, I.: Agr. Biol. Chem. (Tokyo) **33**, 1220 (1969).
7. Kiermeier, F., Rickerl, E.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **102**, 330 (1955).
8. Zucker, M., Levy, C. C.: Plant Physiol. **34**, 108 (1959).
9. Hughes, J. C., Swain, T.: J. Sci. Food Agr. **13**, 229, 358 (1962).
10. Kuzin, A. M., Kopylov, V. A., Melnikova, S. K.: Radiobiologiya **5**, 196 (1965).
11. Ibrahim, R. K.: J. Chromatog. **42**, 544 (1969).
12. Birkhofer, L., Kaiser, C., Meyer-Stoll, H. A.: Z. Naturforsch. **17b**, 352 (1962).
13. Netien, G., Favre, C.: Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon **10**, 61 (1966).
14. Woidich, H., Gnauer, H., Galinovsky, E.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **133**, 317 (1967).
15. Larson, R. L.: J. Chromatog. **43**, 287 (1969).
16. Lehmann, G., Hahn, H. G., Martinod, P.: Deut. Lebensm. Rundschau **63**, **144**, 273 (1967).
17. Heimann, W., Herrmann, K., Feucht, G.: Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **145**, 199 (1971).
18. Truelsen, T. A.: in: Radiation Preservation of Foodstuffs, IVA Meddelande 138, Karlshamn 1964.
19. Mondy, N. I.: J. Food Sci. **31**, 32 (1966).
20. Hasegawa, S., Johnson, R. M., Gould, W. A.: J. Agr. Food Chem. **14**, 165 (1966).

Dr. H. Penner und H. Fromm
 Institut für Strahlentechnologie der Bundes-
 forschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung
 D-7500 Karlsruhe 1
 Engesserstraße 20
 Bundesrepublik Deutschland

Bleilässigkeit von Glasuren und Dekoren auf Bedarfsgegenständen

Analytik und lebensmittelrechtliche Beurteilung

R. FEY und G. BECKER

Mitteilung aus dem Chemischen Untersuchungsamt für das Saarland, Saarbrücken* (BRD)

Eingegangen am 31. Mai 1972

Lead Solubility of Ceramics and Utensils, Analysis and Legislative Evaluation.

Summary. The determination of lead solubility from ceramics is realized by extraction with acetic acid (4 % w/w in water, 24 hours at room temperature) and by following determination of lead by atomic absorption.

The supplementary analysis by iodometric determination as lead chromate (DIN 51031) is varied in some points, so that both ways give the same results.

The legal valuation of lead solubility is discussed in an international view.

Lead solubility in the acetic extract is proposed to be limited to 2 mg/dm² surface.

Zusammenfassung. Bei der Ermittlung der Bleilässigkeit von Bedarfsgegenständen erfolgt zunächst eine Säurebehandlung des Gegenstandes, dann wird im Säureauszug der Bleigehalt ermittelt. Es werden verschiedene Verfahren der Säurebehandlung aufgeführt, wobei der Kaltextraktion mit 4 %iger Essigsäure über 24 Std der Vorzug gegeben wird. Die Bleibestimmung im essigsauren Auszug wird mit Hilfe der AAS durchgeführt. Das Chromatverfahren nach DIN 51031 wird in einigen Punkten geändert. Nach dem abgewandelten Chromatverfahren werden die gleichen Bleigehalte wie mit Hilfe der AAS erhalten. Sodann wird auf die rechtliche Beurteilung der vom Gebrauchsgegenstand abgegebenen Bleimenge unter Berücksichtigung der internationalen Gesetzgebung hingewiesen. Die Rechtslage in der BRD ist unbefriedigend. Es wird vorgeschlagen, die im Essigauszug enthaltenen Bleimengen auf die den Speisen zugewandte Oberfläche des Gebrauchsgegenstandes zu beziehen und eine Höchstmenge von 2 mg Blei je dm² Oberfläche zu tolerieren.

* Vortrag gehalten von R. Fey anlässlich der 31. Arbeitstagung des Arbeitskreises Südwestdeutschland am 27./28. April 1972