

EDMUND SZYSZKO

UWAGI NATURY FIZYKOCHEMICZNEJ  
O MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA PROMIENIOWANIA  
JONIZUJĄCEGO  
DO WYJAŁAWIANIA ŻELATYNY PRZEZNACZONEJ DO CELÓW  
SPOŻYWCZYCH

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku PZH

Wzrastające zapotrzebowanie na żelatynę do celów spożywczych i jednocześnie konieczność sprowadzania z zagranicy żelatyny odpowiednio wyjałowionej, za którą płacimy rocznie kilkaset tysięcy dolarów, zmusza przemysł spożywczy do szukania skutecznych metod jej sterylizacji. Wśród nich na specjalną uwagę zasługuje metoda wyjaławiania przy użyciu promieniowania jonizującego, a szczególnie promieni gamma. W związku z tym nasuwa się szereg uwag natury fizykochemicznej, które będą tematem niniejszego artykułu.

Na wstępie będzie rzeczą słuszną określić warunki chemiczne i fizyczne i wynikające stąd wartości organoleptyczne, jakim powinna odpowiadać w naszych warunkach żelatyna do celów spożywczych.

Z pierwszą definicją produktu zwanego żelatyną spotykamy się w pracy *Ruedigera* i *Mayera* (1). Kolagen, główny składnik zwierzęcej tkanki łącznej, ulega podczas hydrolizy rozszczepieniu z przyłączeniem wody i zamienia się w glutynę, która poprzez glutozy i peptony przechodzi ostatecznie w aminokwasy. Podczas produkcji żelatyny dąży się przede wszystkim do otrzymania początkowych produktów hydrolizy w odróżnieniu od kleju, który jest mieszaniną produktów uzyskanych w dalszej hydrolizie. Według wyżej wymienionych autorów różnice gatunkowe żelatyn pozostają w ścisłej zależności od zawartości w nich glutyny. Przy czym za lepszy uważa się ten gatunek żelatyny, który posiada go więcej.

Produkt ten otrzymuje się różnymi metodami w zależności od rodzaju użytego surowca, jak również przeznaczenia. W handlu spotyka się żelatynę najczęściej pod postacią prostokątnych pofałdowanych listków bądź białozółtego proszku. Powinna ona być przezroczysta, bezbarwna, bez zapachu o smaku śluzowatym i odczynie obojętnym lub lekko kwaśnym. W wodzie zimnej żelatyna nie rozpuszcza się, lecz pęcznieje stopniowo pochłaniając wodę, a ogrzana w tym stanie do 60—80° rozpuszcza się. Nie rozpuszcza się natomiast w 90° alkoholu, eterze i chloroformie.

Według *Ullmanna* (2) procentowy skład węgla, wodoru, azotu i siarki zawartych w żelatynie wynosi w przybliżeniu:

C — 50%,  
H — 6,5 — 6,7%,  
N — 17,5 — 18,3%,  
S — 0,5%.

Badania *Fischera* (3) nad produktami rozszczepienia hydrolitycznego żelatyny wykazały obecność następujących aminokwasów:

Glicyny (Glikokol) . . . . .	16,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Alaniny . . . . .	0,8 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Leucyny . . . . .	2,1 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Kwasu asparaginowego . . . . .	0,6 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Kwasu glutaminowego . . . . .	0,9 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Argininy . . . . .	7,6 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Histydyny . . . . .	0,4 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>
Proliny . . . . .	5,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>

Stwierdzono jednocześnie małą ilość tyrozyny i zupełny brak cystyny i tryptofanu. Wymagania odnośnie ilości zanieczyszczeń chemicznych dla żelatyny określone są przez normę polską. Dla orientacji w tabeli I podane są normy obowiązujące również w ZSRR i Anglii.

Tabela I  
Normy dotyczące zawartości niektórych pierwiastków w żelatynie

Składniki	Normy kraju		
	ZSRR	Anglia	Polska
Popiół w %	2	3,25	2
As w mg %	ś l a d y	0,2 (jako As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	0,1
Pb „	zupełny brak	0,7	0,7
Cu „	3,5 (w przeliczeniu na suchą żelatynę)	3,0	3,0
Zn „	ś l a d y	10	10
SO <sub>2</sub> „	75	100	75 (dla żelatyny do konserw 35)

Według normy radzieckiej pH żelatyny powinno wynosić 5—7.

Zawartość wilgoci w żelatynie wynosi od 10—17%.

Badania fizykochemiczne dotyczą przede wszystkim siły żelowania, działania ciepła, lepkości, określania temperatury krzepnięcia i topnienia, zdolności pęcznienia oraz wrażliwości na światło.

Omawiając te właściwości należy zwrócić uwagę na zależność większości z nich od pH. Wiadomą powszechnie jest rzeczą, że w punkcie izoelektrycznym, który jest cechą charakteryzującą każdą substancję białkową, właściwości fizyczne o których była mowa przed chwilą, przybierają swoje maksima i minima. Punkt izoelektryczny dla żelatyny znajduje się przy pH 4,7. Nie łączy się ona wówczas ani z dodatnio, ani ujemnie naładowanymi jonami. Natomiast przy wyższych wartościach pH zmienia swoje właściwości i zachowuje się, jak anion tzn. łączy się z dodatnio naładowanymi jonami. Przy niższych wartościach pH jako kation łączy się elektrostatycznie z ujemnie naładowanymi jonami. Łatwo stąd wyciągnąć wniosek, że w punkcie izoelektrycznym rozpad żelatyny jest właśnie najmniejszy.

Obniżenie napięcia powierzchniowego, czystość analityczna, zmętnienie osiągają w tym punkcie swoje maksimum natomiast lepkość, skręcalność,

trwałość w roztworze, zawartość popiołu, przewodnictwo elektryczne, ciśnienie osmotyczne osiągają swoje minimum.

Ważnym kryterium na podstawie którego klasyfikuje się żelatynę do poszczególnych celów jest siła żelowania. Określa się ją różnymi sposobami, najczęściej jednak przy zastosowaniu żelometru Blooma (4). Nie zawsze jednak żelatyna o dużej sile żelowania jest bardziej poszukiwana w przemyśle spożywczym.

Bardzo często żelatyna taka jest bardziej wrażliwa na zmiany temperatury, co dyskwalifikuje ją jako produkt spożywczy.

Sucha żelatyna ogrzewana przez dłuższy czas powyżej temp. 100°, mimo że nie wykazuje żadnych widocznych objawów rozkładu traci właściwości pęcznienia w zimnej wodzie. Natomiast podczas gotowania w wodzie przechodzi ona w nie żelatynującą modyfikację  $\beta$ -glutyny zwanej także gelatozą lub glutozą. Przy dłuższym gotowaniu powstają albumozy i peptony, a w końcu — zwłaszcza w obecności kwasów — aminokwasy.

Badania nad lepkością żelatyny wykazały, że w dużym stopniu proporcjonalna ona jest do ilości zawartej w żelatynie glutyny. Poza tym zależy ona również od stężenia żelatyny w roztworze, sposobu przyrządzenia tego roztworu, jak również od temperatury, pH i stężenia znajdujących się w roztworze elektrolitów i nieelektrolitów.

Najczęściej pomiar lepkości wykonuje się metodą przepływu przy zastosowaniu wiskozymetru Ostwalda (5).

Wiadomą jest rzeczą, że przejście żelatyny ze stanu ciekłego w stały i odwrotnie nie odbywa się w sposób nagły, lecz w sposób ciągły, przeto dla żelatyny nie określa się temperatury tylko zakres temperatur krzepnięcia i topnienia. Pomiary wykonuje się różnymi metodami, z których dość często stosuje się metodę Ostwalda (6). Należy w tym miejscu zwrócić uwagę, że dodatek soli mineralnych wybitnie obniża temp. krzepnięcia i topnienia roztworów żelatyny.

Pęcznienie żelatyny odbywa się z pewną szybkością, w której stała szybkości jest zależna od współczynnika dyfuzji cząsteczek ośrodka dyspersyjnego do żelu. W procesie tym obok innych czynników poważną rolę odgrywa światło, na które żelatyna jest bardzo czuła. W piśmiennictwie spotyka się wiele prac na ten temat. Roztwory żelatyny, niezależnie od pochodzenia i pH, okazują absorpcję ultrafioletu w paśmie 2 600, 2 660 i 2 700 Å. Zdolność tę *Anslow* (7) przypisuje wiązaniom peptydowym. Badania *Bakera* i *Davidsona* (8) nad zależnością absorpcji od pH wykazały, że w miarę zwiększenia pH żelatyny maksimum absorpcji przesuwa się ku czerwieni i odwrotnie, zmniejszając pH zaznacza się coraz bardziej wzrost absorpcji promieni o krótszej fali.

*Sheppard* (9) twierdzi nawet, że istnieje w żelatynie składnik szczególnie czuły na działanie światła, podobny do cholesterolu, który można wyodrębnić. Dalsze prace w tej dziedzinie wykazały, że dodatek sensybilizatorów takich jak błękit metylenowy i innych wybitnie wzmacnia czułość żelatyny na światło.

Według *Reitlingera* i *Igołkiny* (10) pozafiolet zmienia nawet chemiczną strukturę żelatyny, uwalnia osmotycznie związane cząsteczki wody i zmniejsza lepkość, przy czym tlen obecny w tym procesie nie wpływa na szybkość reakcji.

Hamujący wpływ ultrafioletu na pęcznienie żelatyny, zwłaszcza pod-

danej działaniu dwuchromianu potasowego i błękitu metylenowego, stwierdził również *Gałecki* (11).

Przytoczone wyżej metody fizykochemiczne badania jakościowego żelatyny nasuwają szereg uwag. Rzuca się w oczy przede wszystkim brak jednolitych metod badawczych, utrudniających w dużej mierze wyciąganie wniosków na podstawie otrzymanych wyników. Z drugiej strony obserwuje się szereg wzajemnych zależności cech fizycznych i zależności tych ostatnich od składu chemicznego żelatyn oraz złożoność wielu procesów, które w wielu przypadkach nie są jeszcze dostatecznie wyjaśnione.

Jak zatem na tle uwag fizykochemicznych przedstawia się możliwość ewentualnego zastosowania promieni jonizujących do sterylizacji żelatyny?

Wiadomą jest rzeczą, że sole wysokocząsteczkowych połączeń, a więc i żelatyny zmieniają swoje właściwości koloidalno-chemiczne pod wpływem działania elektrolitów, mechanicznego wstrząsania, fal ultradźwiękowych, nagrzewania jak również promieniowania jonizującego. Badania zachodzących przy tym procesów, szczególnie pod działaniem promieniowania jonizującego, które dalyby możliwość ustalenia, czy zmiany właściwości wysokocząsteczkowych połączeń wynikają z rozpadu cząsteczek lub towarzyszą rozrywaniu łańcuchów głównych wartościowości — przedstawiają wielkie praktyczne i teoretyczne znaczenie.

Jak wiadomo, efekt promieniowania polega między innymi na wytwarzaniu w całym środowisku jonów i cząsteczek pobudzonych, które następnie reagując wywołują zmiany chemiczne i biologiczne w danym środowisku. Mówi się wówczas o tzw. „pośrednim” i „bezpośrednim” efekcie promieniowania. Efekt „bezpośredni” związany jest z bezpośrednim trafieniem jakiejś cząsteczki i naturalnie zależny jest od jej rodzaju.

Energia udzielona cząsteczce o sprzężonych wielokrotnych wiązaniach może być natychmiast rozdzielona między wiązania, tak że możliwość pęknięcia któregoś z nich jest minimalna. Natomiast w cząsteczkach posiadających jakieś słabe wiązanie może być ono zerwane i powstające rodniki mogą wziąć udział w mniej lub bardziej skomplikowanych reakcjach wtórnych.

Jeżeli chodzi o żelatynę to ze względu na peptydowy charakter wiązań jej aminokwasów, jak również wrażliwość na światło, należałoby raczej sądzić, że substancja ta będzie czuła na działanie bezpośrednie każdego promieniowania jonizującego bez względu na rodzaj i dawkę. Trzeba jeszcze zwrócić uwagę, że pewne znaczenie praktyczne posiadać będzie efekt pośredni naświetlania ze względu na stosunkowo dużą zawartość wody w żelatynie. Cząsteczki jej pod wpływem naświetlania rozpadają się na rodnik OH, który jest czynnikiem utleniającym i atom H o silnych właściwościach redukujących. Jeszcze większe znaczenie praktyczne ma obecność w wodzie rozpuszczonego tlenu, który łącząc się z atomami wodoru daje połączenia o silnych właściwościach utleniających jak  $H_2O_2$  i rodniki nadtlenkowe ( $HO_2$ ). Powstają więc związki mogące wywołać energiczną reakcję utleniania lub w niektórych przypadkach redukcji lub wymiany.

Z danych opublikowanych w piśmiennictwie wynika, że zagadnieniem wpływu promieni jonizujących na żelatynę interesowano się już od dawna. Na szczególną uwagę zasługują prace *Fernaui* i *Pauliego* (12, 13)

dotyczące wpływu promieni radu na niektóre koloidy liofilne, jak agar, żelatyna i albuminy. Ustalono, że naświetlanie radem wywoływało spadek lepkości i zdolność wpływania zolu agaru na roztwór Fehlinga. Naświetlając zol żelatyny w ciągu 31 dni 78,6 mg radu, *Fernau i Pauli* zauważyli początkowo szybki spadek lepkości, który następnie ustalał się na pewnym poziomie. Obecność niewielkich ilości NaCl zmniejszała wyraźnie efekt działania radu. Doświadczenia nad wpływem promieni radu na roztwory albumin wykazały hamujące działanie soli na koagulację białka. Dalsze prace prowadzone w tym kierunku przez *Fernaui* (14—16) wykazały koagulację roztworów albuminu jaja, surowicy krwi, jak również pseudoglobuliny pod wpływem naświetlania radem. Zauważono również, że znikome ilości amoniaku w roztworze albuminu i surowicy zwalniały wyraźnie proces koagulacji.

Badania nad zmianą lepkości roztworów żelatyny naświetlanej promieniami radu prowadzili również *Zukow i Unkowskaja* (17), stwierdzając spadek lepkości, zmniejszenie pH i skręcalności właściwej. Po 24 godzinach zol żelatyny ścinał się, a po upływie dalszych 24 godzin z galarety oddzielała się faza ciekła, której lepkość niewiele się różniła od lepkości czystej wody. Autorzy dochodzą do wniosku, że wpływ emanacji radu na zole żelatyny nie ogranicza się tylko do procesów koloidalno-chemicznych, ale wywołuje w żelatynie większe wewnętrzne zmiany.

Nad chemiczną degradacją i właściwościami koloidalnymi zoli żelatyny, naświetlanych przenikającymi promieniami radu, pracował również *Chenoch* (18), który w odróżnieniu od badaczy wyżej wymienionych zwrócił szczególną uwagę na sterylność żelatyny poddawanej naświetlaniu, wychodząc ze słusznego założenia, że produkt ten szybko rozkłada się pod działaniem bakterii. W związku z tym ogrzewano żelatynę przed naświetlaniem w autoklawie w temp. 120° w ciągu 10—20 minut, po czym, bezpośrednio, badano w niej ilość azotu aminowego stwierdzając, czy nagrzewanie nie naruszało chemicznej identyczności żelatyny. Oczywiście w czasie nagrzewania, w podanych wyżej warunkach, żelatyna ulegała częściowo koagulacji. Zole żelatyny w kolbkach 50 lub 100 ml, zabezpieczone od wyparowania korkami parafinowymi, naświetlano  $RaBr_2$  zalutowanym w rurce szklanej w ten sposób, ażeby promienie emitowane, z wyjątkiem promieni  $\gamma$ , były pochłonięte przez szkło rurki i kolbki.

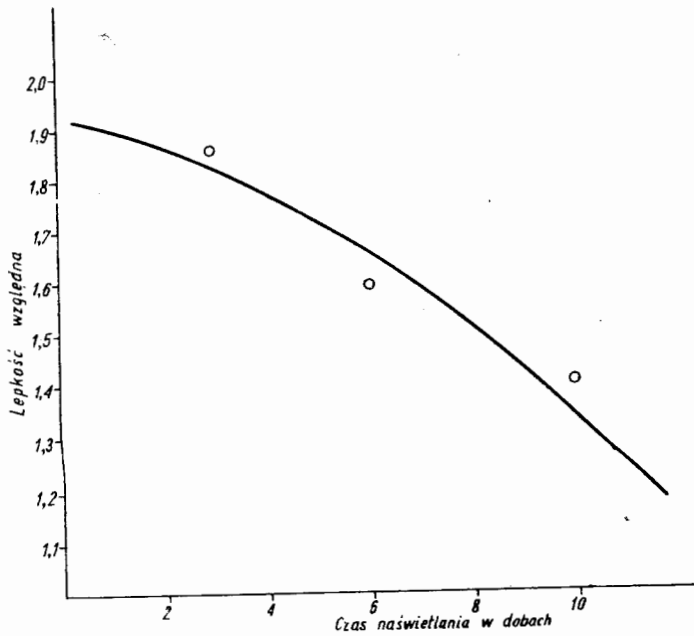
Lepkość określano wiskozymetrem Ostwalda, pH-elektrometrycznie przy zastosowaniu elektrody chinhydronowej, przewodnictwo metodą Kohlrauscha, a ochronne działanie żelatyny w stosunku do zolu  $Fe(OH)_3$  przygotowanego wg metody Krecki.

Wpływ przenikającego działania promieni radu na 0,5%-owy zol żelatyny ilustrują ryc. 1 i 2.

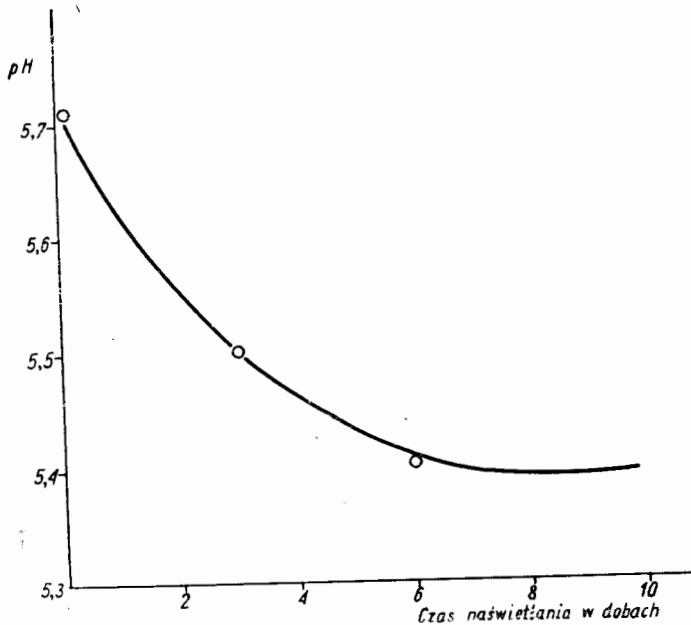
Na rycinie 1 i 2 widać spadek lepkości i zmiany pH zachodzące w ciągu pierwszych dni naświetlania żelatyny. Szybkie zwiększanie na początku koncentracji jonów wodorowych osiąga z czasem wielkość stałą i świadczy w danym przypadku o hamowaniu procesów degradacji żelatyny. Reakcja z odczynnikiem Nesslera jak również zmiana pH wskazują na chemiczny rozkład białka, przy rozpadzie którego pod działaniem promieni radu powstaje amoniak. Dalsze badania *Chenocha* szły w kierunku wyjaśnienia czy długotrwałe działanie promieni jonizujących radu wywołuje

powstawanie kompleksów o charakterze koloidalnym czy też produktów dyspersji molekularnej.

W tym celu zol żelatynowy o tym samym stężeniu, tzn. 0,5% naświetlano 2 gramami radu. Po 5 dniach naświetlania na ściankach kolbki pojawiał się bezpostaciowy osad o barwie szarej, nierozpuszczalny przy



Ryc. 1. Wpływ radu na lepkość względną.



Ryc. 2. Wpływ radu na pH.

długotrwałym gotowaniu w wodzie, a rozpuszczający się dopiero pod wpływem zasad. W fazie ciekłej po oddzieleniu osadu określano stężenie, pH, przewodnictwo oraz właściwości ochronne.

Otrzymane wyniki wykazały, że zwiększenie radu do 2 g wywołuje w 0,5%-owych zolach żelatyny prawie 50% koagulację, wybitne obniżenie pH i jednoczesne zwiększenie przewodnictwa. Z badań tych można wyciągnąć wniosek, że chemiczne skutki działania promieni  $\gamma$  zależą od wielkości źródła promieniowania.

Należy przy tym zaznaczyć, że bez względu na chemiczny rozkład żelatyny zol napromieniowany w ciągu 17,5 dnia, zabarwiając się odczynnikiem Nesslera na jasnożółto, zachowywał zdolność reakcji biuretowej.

Poza tym stwierdzono, że przy napromieniowaniu 0,5%-owego zolu początkowo wzrasta właściwość ochronna żelatyny, a przy dłuższej ekspozycji następuje spadek. Podane zależności obserwowane można również przy termolizowaniu żelatyny w autoklawie w temp. 120°. Ostry spadek ochronnych właściwości żelatyny po dłuższej ekspozycji tłumaczyć można głębokim chemicznym rozkładem protein. Dodatnia próba na reakcję biuretową pozwala jednocześnie wnioskować, że powstające przy tym połączenia odnoszą się do produktów niecałkowitego rozkładu polipeptydów, a zdolność okazywania ochronnego działania pozwala na stwierdzenie, że te połączenia zachowują jeszcze koloidalną dyspersję i odpowiednią długość łańcuchów głównych wartościowości.

Dalsze badania przeprowadzone przez *Chenocha* nad 1%-owymi zolami żelatyny wykazały, że część zolu podlega nieodwracalnej koagulacji, a przy dłuższym naświetleniu nie tworzy się nowy osad.

Częściowa koagulacja nie zwiększająca się wraz z czasem naświetlania pozwala wnioskować, że mało- i wielocząsteczkowe frakcje żelatyny odmiennie reagują na działanie koagulacyjne promieni radu. *Putilowa* (19) przypuszcza, że denaturacja części żelatyny została spowodowana nieodwracalną koagulacją wielocząsteczkowej frakcji, w przeciwieństwie do której najbardziej małowcząsteczkowa frakcja utrzymuje się w roztworze.

Istotnie, badania przeprowadzone w tym kierunku potwierdziły to przypuszczenie, że małowcząsteczkowe frakcje zolu żelatyny, otrzymane podczas autoklawowania, są bardziej odporne na działanie koagulacyjne promieni  $\gamma$  niż frakcje wielocząsteczkowe zolu żelatyny.

Wygląd zewnętrzny osadu w zależności od stężenia zoli i wielkości dawki naświetlania był różny. Przy naświetlaniu małymi ilościami radu osadzała się faza stała w kształcie przezroczystego żelowatego osadu mocno przylegającego do dna kolbki. Przy bardziej stężonych zolach i dłuższej ekspozycji zwiększonej dawki radu, osad ten przybierał postać lekko posuwającej się, bezpostaciowej szarej masy\*.

Badanie lepkości względnej fazy ciekłej w zależności od temperatury wykazało, że nie zmienia się ona wiele w temperaturach wyższych od 20°.

*Staudynger* (21) uważa to za dowód, że pierwotnymi koloidalnymi cząstkami w roztworze są nie *micelle*, lecz makrocząsteczki.

\* Jak stwierdził *Hannan* (20), przy naświetlaniu 2%-owych zoli żelatyny dawką 10<sup>6</sup> rep promieni  $\gamma$ , powstały osad nie rozpuszczał się w gotującej wodzie i wykazywał tendencje do kurczenia się.

Dane dotyczące wpływu promieni  $\gamma$  radu na pomiary pH i działanie ochronne 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-owego zolu wykazują, że długotrwałe działanie większej dawki promieni jonizujących radu wywołuje w 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-owym zolu żelatyny spadek lepkości, zmniejszenie pH i zwiększenie ochronnego działania. Jednak w porównaniu z naświetlaniem 0,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-owym zolu żelatyny tą samą dawką obserwuje się tu mniej ostry przebieg zmian koloidalno-chemicznych. Do tego samego wniosku można dojść na podstawie obserwacji zmian pH jak również liczby ochronnej.

Na podstawie wyżej podanych badań można wyciągnąć ogólny wniosek, że pod wpływem promieniowania  $\gamma$  radu żelatyna podlega nie tylko przemianom koloidalnym, ale i chemicznemu rozkładowi. *Chenoch* (18) przeprowadził jeszcze dalsze badania, polegające na naświetleniu niektórych aminokwasów żelatyny i ich pochodnych, celem zorientowania się, jak i na które ugrupowania białkowej cząsteczki działają promienie  $\gamma$ .

W glikokolu badano ich działanie na grupę  $\text{NH}_2$ , a w acetylowanym glikokolu i prolinie na grupę iminową ( $-\text{NH}-$ ). Wpływ promieni  $\gamma$  na połączenia peptydowe badano w dwuketopiperazynie.

Tabela II przedstawia działanie promieni  $\gamma$  radu na wyżej wymienione aminokwasy i ich pochodne.

Tabela II  
Wpływ promieni radu na aminokwasy i ich pochodne

Połączenie	Warunki promieniowania	Reakcja Nesslera na amoniak
$\text{NH}_2 \text{ CH}_2 \text{ COOH}$ glikokol	0,03 g w 20 ml $\text{H}_2\text{O}$ Napromieniowano w ciągu 2 dni 470 mg radu	Jasnożółte zabarwienie
$\text{CH}_3 \text{ CONH CH}_2 \text{ COOH}$ acetyloglikokol	0,2337 g w 20 ml $\text{H}_2\text{O}$ Napromieniowano w ciągu 2 dni 470 mg radu	Żółte zabarwienie
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} - \text{CH}_2 \\   \quad   \\ \text{H}_1\text{C} \quad \text{CH} - \text{COOH} \\   \\ \text{NH} \end{array}$ prolina	0,0726 g w 10 ml $\text{H}_2\text{O}$ Napromieniowano w ciągu 3 dni 470 mg radu	Intensywnie żółte zabarwienie
$\begin{array}{c} \text{CO} - \text{CH}_2 \\   \quad   \\ \text{NH} \quad \text{NH} \\   \quad   \\ \text{CH}_2 - \text{CO} \end{array}$ dwuketopiperazyna	0,0344 g w 10 ml $\text{H}_2\text{O}$ Napromieniowano w ciągu 2,5 dni 470 mg radu	Żółte zabarwienie szybko przechodzące w brunatną barwę



Oczywiście dla zachowania tych samych warunków naświetlania powyższe związki były w identyczny sposób przedtem sterylizowane w autoklawie w temp. 120° w ciągu 10—15 minut.

Z tabeli powyższej wynika, że tak grupa aminowa w glikokolu czy iminowa w prolinie i acetyloglikokolu jak również peptydowe połączenie w dwuketopiperazynie pod wpływem promieni  $\gamma$  rozpada się z wydzieleniem amoniaku.

Celem wyjaśnienia zależności rozkładu aminokwasu od czasu napromieniowania jego radem, sterylne roztwory glikokolu poddawano ekspozycji w ciągu 5, 12 i 15 dni, po czym oznaczano w roztworze przewodnictwo oraz ilości amoniaku odczynnikami Nesslera.

Z danych ujętych graficznie wynika, że tylko do dnia 12 wzrost amoniaku otrzymanego w wyniku naświetlania ma charakter liniowy, po czym następuje przelom i wyraźny wzrost amoniaku.

Powyższy fakt poparty stwierdzeniem wzrostu przewodnictwa prądu w roztworze glikokolu świadczy o daleko posuniętym rozkładzie tego aminokwasu wskutek długotrwałego działania promieni  $\gamma$ .

Ciekawe badania wpływu promieni  $\gamma$  na żelatynę w stanie suchym przeprowadzali *Mateles i Goldblith* (23). Do naświetlania użyto kobaltu  $^{60}\text{Co}$  o dawkach do 2 milionów rep oraz akceleratora elektronowego dla dawek o większych rozmiarach. Pomiary lepkości względnej wykonywano na żelatynie, rozpuszczonej w 0,15-m roztworze chlorku sodowego, stosując viskozymetr Ostwalda-Fenskego. Siła żelowania określana była za pomocą żelometru Blooma, zgodnie z oficjalną metodą podaną przez AOAC (4).

Wyniki lepkości względnej wskazują, że stosowane dawki radiacji powodowały tworzenie się wiązań poprzecznych w wiązaniach polimeru i stosunkowo trudno porównać stopień zerwania wiązań peptydowych w obrębie poszczególnych molekuł.

Z drugiej strony prace badawcze *McArdla* (24) i innych nad skutkami działania promieni katodowych o dawce  $0,5 - 1,5 \times 10^6$  rep na wodne roztwory kazeiny i albuminy białka jaja, wykazały wzrost grup sulfhydrylowych, co jest niezbitym dowodem przegrupowania wewnątrzcząsteczkowego, a jednocześnie dowodzi, że w tych warunkach naświetlania wiązania peptydowe nie są atakowane. Potwierdzeniem tego jest również fakt, że w tych zmianach molekularnych nie obserwuje się wzrostu azotu aminowego.

Według tych autorów efekt promieniowania skupia się zdecydowanie na miejscach połączeń siarkowych, jak również pewne fakty wskazują na przerywanie połączeń wodorowych.

Należy tu mocno podkreślić fakt, że to samo promieniowanie jonizujące może w różnych białkach wywoływać różne zmiany.

Większość aminokwasów, a wśród nich i te które spotykamy w żelatynie, ulega podczas naświetlania dezaminacji w wyniku czego powstają ketokwasy lub aldehydy. Stwierdzono, że z leucyny, która w żelatynie występuje w ilości 2,1% powstaje aldehyd izowalerianowy o silnym nieprzyjemnym zapachu, co wskazuje na zachodzącą także dekarboksylację. Bardziej złożone aminokwasy, jak już podano, wydzielają przy tym amoniak. Stwierdzono również w niektórych przypadkach rozerwanie pierścienia benzenowego w niektórych aminokwasach aromatycznych. Korzystnym faktem w tym momencie jest to, że procent rozkładu aminokwasów w stężonych roztworach jest niewielki i nawet przy użyciu

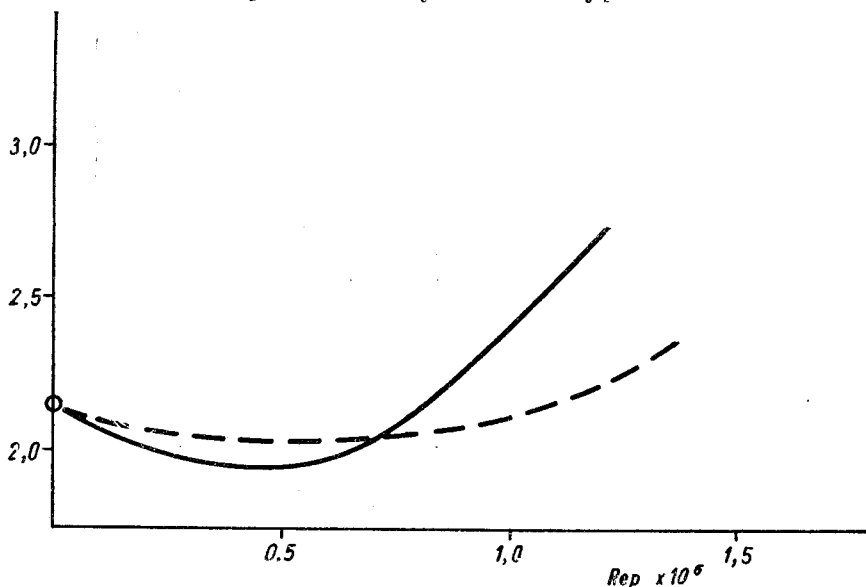
wysokich dawkach promieniowania rzędu  $2 \times 10^6$  rep nie przekracza prawdopodobnie kilku procent. Badanie na białkach i enzymach zawierających grupę — SH wykazały, że ulegają one inaktywacji na skutek utlenienia, ale efekt ten może być odwrócony po napromieniowaniu.

Doświadczenia dalsze wykazały, że jonizacja wywołuje pękanie wiązań i otwarcie cząsteczki białka, a co zatem idzie zmniejsza się oporność na działanie enzymu. Wnioski te wyciągnięto na podstawie wzrastającej szybkości hydrolizy enzymatycznej trypsyny na naświetlanej kazeinie i albuminie jaja. Dalsze badania nad aktywnością naświetlanych roztworów trypsyny wskazują, że enzym ten jest prawie zupełnie odporny na promieniowanie, nawet *in vitro*, w zakresie od 0,5 do  $1,5 \times 10^6$  rep. Co ciekawsze, że enzym ten wykazuje większą jeszcze oporność na promieniowanie, znajdując się w naturalnych substancjach żywnościowych. Dopiero większe dawki mogą wywołać inaktywację tego enzymu.

Podobnie jak trypsyna zachowują się inne naturalne enzymy proteolityczne, jak np. pepsyna badana przez *Northropa* (25), które nie ulegają inaktywacji w zakresie dawek stosowanych do radiosterylizacji żywności. Niestety napromieniowanie to zwiększa szybkość procesów enzymatycznych, co w konsekwencji prowadzi do szybkiego rozkładu żywności. Istnieją przypuszczenia, że ta zwiększona aktywność enzymów proteolitycznych jest zapewne przyczyną zmian zapachowych, które były i są nawet jeszcze przypisywane reakcjom ubocznym.

Inną zupełnie rolę odgrywają pewne substancje ochronne, a szczególnie kwas askorbinowy (ryc. 3) w procesie naświetlania protein promieniami jonizującymi.

Kwas askorbinowy wybitnie zmniejsza ujemne skutki działania tego promieniowania. Badania *Proctora* (26) wykazały, że część energii promieniowania jest absorbowana przez kwas askorbinowy i w ten sposób zmiany zachodzące w proteinach wybitnie maleją.



Ryc. 3. Wpływ naświetlania na lepkość względną w roztworze kazeiny i ochronny wpływ kwasu askorbinowego. — 2% kazeina, - - - 2% kazeina + kw. askorbinowy (0,5 mg/ml).

Do tych czynników ochronnych, jak wykazały prace niektórych badaczy, należą również tiomocznik, glutation, cysteina oraz inne jeszcze związki siarki. Podkreśla się jednocześnie konieczność dalszych badań nad mechanizmem działania wolnych akceptorów radiacyjnych w reakcjach ochronnych. Dalsze doświadczenia wykazały, że proces zamrażania produktu naświetlanego w znacznym stopniu ogranicza efekt pośredni napromieniowania, prawdopodobnie na skutek ograniczenia ruchliwości swobodnych rodników.

Jak już zaznaczono, zmiany zapachowe w głównej mierze zależą od stopnia rozkładu substancji białkowych i tłuszczowych, a te od wielkości dawki i warunków, w jakich odbywa się napromieniowanie.

Dobrą ilustracją skutków działania promieniowania jonizującego o dawce  $5\,700\,000$  rep na aminokwasy zawarte w filetach ryb jest tabela III.

Tabela III

Zmiany ilościowe aminokwasów zaw. w filetach ryb, naśw. prom. jon. o dawce  $5,7 \times 10^6$  rep

Aminokwas	Zmiany w aminokwasie	
	Straty %	Zwiększenie ilości %
Fenyloalanina . . . . .	6,10	0,00
Tryptofan . . . . .	6,92	0,00
Metionina . . . . .	4,68	0,00
Cystyna . . . . .	0,00	0,00
Walina . . . . .	0,00	6,36
Leucyna . . . . .	0,00	2,74
Histydyna . . . . .	0,00	8,11
Arginina . . . . .	0,00	4,12
Lizyna . . . . .	4,23	0,00
Treonina . . . . .	5,95	0,00

Trzy podkreślone w tabeli III aminokwasy występują w żelatynie, i w takich warunkach naświetlania ilość leucyny wzrosłaby ca o 0,05 g, histydyny o 0,03 g, a argininy o 0,31 g na 100 g masy. Biorąc jednak pod uwagę, że dawka  $5,7 \times 10^6$  rep dla naświetlania żelatyny celem jej sterylizacji jest przynajmniej dwukrotnie za duża, należałoby sądzić, że ewentualne zmiany ilościowe w tych trzech aminokwasach byłyby nieistotne i nie wpływałyby na zmiany zapachu żelatyny. Nie wiadomo jednak, w jakim stopniu ulegają zniszczeniu pozostałe aminokwasy znajdujące się w żelatynie, a zwłaszcza glikokol, który występuje w ilości największej.

Warto również w tym miejscu zwrócić uwagę, że odnośnie leucyny dawka rzędu  $2 \times 10^6$  rep wywoływała dekarboksylację w wyniku

czego powstał aldehyd izowalerianowy, a przy dawce 5 700 000 rep nie stwierdzono jej ubytku, a nawet zaobserwowano wzrost ilości o 2,74%.

Dane te wyjęte z dwóch różnych prac świadczą bądź o rozbieżności wyników, bądź o skomplikowanym charakterze zmian zachodzących w napromieniowanych substancjach białkowych.

Innym zagadnieniem niezmiernie ważnym jest zmiana barwy w żelatynie. W mięsie wołowym mechanizm zmiany barwy został w dużym stopniu wyjaśniony przez *Gingera*, *Levisa* i *Schweigerta* (27). Zjawisko to badacze ci tłumaczą utlenieniem mioglobiny, głównego barwnika mięsa do brązowej metmioglobiny, czerwonej oksymioglobiny i bliżej nie zidentyfikowanego barwnika koloru zielonego.

Stwierdzono również w czasie tych badań zależność zmiany barwy od dopływu powietrza, a więc udowodniono oksydacyjny charakter tych zjawisk. Naświetlanie mięsa bez dostępu powietrza nie wywoływało zmiany barwy. Odnośnie żelatyny trudno coś na ten temat powiedzieć. Prace *Shepparda* (9) jak również *Arnow* (28) wskazują na to, że istnieje w niej składnik szczególnie czuły na światło, a promienie  $\gamma$ , które najczęściej stosuje się w zimnej sterylizacji, posiadają przecież energię nieporównanie większą. Stąd wypływałby może wniosek, że tu należałoby się spodziewać nie tyle wyraźnych zmian barwy, co zmian w zakresie lepkości, zdolności pęcznienia, temperatury krzepnięcia i topnienia, a może nawet siły żelowania naszego obiektu zainteresowań.

Co do właściwości smakowych to jasną jest rzeczą, że wszystkie te przemiany natury chemicznej i fizycznej, a szczególnie wytwarzanie się amoniaku i zmiany w konsystencji nie wpływają dodatnio na tę ostatnią cechę organoleptyczną.

Niemniej te wszystkie mankamenty zimnej sterylizacji w odniesieniu do artykułów żywnościowych, a szczególnie do tych, które posiadają charakter białkowy i tłuszczowy usuwane są systematycznie i skutecznie na drodze stosowania metod pomocniczych idących przede wszystkim w kierunku eliminacji reakcji utlenienia. Stosowanie niewielkich ilości substancji redukujących takich, jak kwas askorbinowy, azotyn sodu, niektórych jeszcze witamin, których obecność w produkcie jest dozwolona prawnie, a jednocześnie nie wpływa na smak, zapach i wygląd zewnętrzny badanego produktu, w dużym stopniu zapobiega niepożądanym reakcjom utlenienia. W niektórych przypadkach stosowanie niskich lub podwyższonych temperatur, zmiany pH, usuwanie powietrza i tlenu, napromieniowanie w atmosferze gazu obojętnego lub w specjalnych opakowaniach pod zmniejszonym ciśnieniem dodatnio wpływa na cechy organoleptyczne, właściwości fizyczne i chemiczne produktu wyjałowionego.

Ostatnim zagadnieniem, które może budzić największy niepokój wśród przeciwników stosowania zimnej sterylizacji do celów żywnościowych, jest sprawa wzbudzonej radioaktywności. Stwierdzono doświadczalnie, że przy zachowaniu odpowiednich warunków technicznych, zabezpieczających przenikanie wolnych neutronów o dużej energii do naświetlanej żywności i przy stosowaniu dawek sterylizujących promieniowania jonizującego, nie może być mowy o radioaktywności wzbudzonej. Potwierdzeniem tego są prace *Meinkego* (29), który naświetlał promieniami  $\gamma$  ze źródła kobaltowego o aktywności 1 kc, takie pierwiastki występujące w żelatynie jak: C, Cu, Pb, Zn, Fe, S, a poza tym As, B, Cr, Co, J, Mg, Mo, Ni, O, P, K, Si, Ag, NaCl, NaF i w żadnym przypadku nie stwierdził jakiegokolwiek radioaktywności wzbudzonej.

Kończąc rozważania fizykochemiczne nad możliwością zastosowania promieni jonizujących do wyjąławiania żelatyny, należy powiedzieć, że wiele istotnych zagadnień co do zmian fizycznych i organoleptycznych cech nie zostało tu poruszonych. Wynika to w pierwszym rzędzie z braku danych w piśmiennictwie fachowym.

Niemniej na podstawie tego, co podano wyżej, należy stwierdzić, że:

1. Promienie jonizujące, a przede wszystkim promienie  $\gamma$  wpływają na chemiczno-koloidalne właściwości zoli żelatynowych.

2. Wielkość zmian fizykochemicznych zależy od wielkości dawki i czasu naświetlania promieniami jonizującymi.

3. Wpływ substancji towarzyszących (witamin, wody i tlenu) zwiększa lub zmniejsza efekt naświetlania.

4. W zakresie dawek stosowanych przy sterylizacji środków żywnościowych nie zachodzi obawa wzbudzenia radioaktywności.

5. Żelatyna napromieniowana w warunkach opisanych wyżej może nie będzie toksyczna, ale właściwości fizykochemiczne, a szczególnie cechy organoleptyczne, ulegną zmianie.

6. Zmieniając odpowiednio warunki fizyczne i stosując niektóre substancje ochronne można będzie w efekcie naświetlania promieniami jonizującymi otrzymać żelatynę jałową z zachowaniem jej niezmiernie ważnych cech fizycznych i organoleptycznych.

W każdym bądź razie wzrastająca szybko liczba prac dotycząca zimnej sterylizacji, jak również nakład środków przeznaczonych na ten cel w wielu krajach na świecie, świadczy, że zwraca się tam coraz większą uwagę na stosowanie tej metody w praktyce.

### Э. Шиянко

## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ЗАМЕТКИ О ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ИОНИЗАЦИОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ЦЕЛЬЮ СДЕЛАТЬ СТЕРИЛЬНЫМ ЖЕЛАТИН ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ДЛЯ ПИЩИ

### Содержание

Необходимость привозить из заграницы стерильного желатина предназначенного для пищевых продуктов, заставляет пищевую промышленность искать удачного метода стерилизации нашего. Этот труд посвящен оценке желатина, подверженного действию ионизационного излучения с целью сделать его стерильным.

После обсуждения вкусовых, физических и химических стоимостей поставленных желатину предназначенного для пищевых продуктов подвергнуто критической оценке его безвредность после радиоактивного излучения различными дозами, наконец дополнено оценкой действия ионизационного излучения другие белковые тела сходных химическим строением с желатином. Обращено также внимание на предохранительные вещества уменьшающие вредные последствия возникающие вследствие радиоактивного излучения.

Удостоверено, что в зависимости от доз применяемых во время стерилизации пищевых продуктов, изменяя сообразно физические условия и применяя вещества уменьшающие вредные последствия, можно будет, благодаря ионизирующему излучению, получить стерильный желатин, сохраняющий физические, химические и вкусовые стоимости.

E. Szyszko

## REMARKS OF PHYSICO-CHEMICAL NATURE ON THE POSSIBILITY OF EMPLOYING IONIZING RADIATION FOR THE STERILIZATION OF GALATINE USED FOR CONSUMPTION PURPOSES

## Summary

The necessity of importing properly sterilized gelatine for consumption purposes (payment of several hundred thousand dollars yearly) induces the food industry to look for effective methods of sterilization of gelatine. The present study is devoted to the physico-chemical evaluation of gelatine. For the purpose of sterilization the gelatine was treated with ionizing rays. Having discussed organoleptic, physical and chemical characteristics and the conditions required of gelatine for consumption purposes. The effects of radium irradiation (of various dosage) on gelatine were critically analyzed, and this was supplemented by the evaluation of the effect of the action of ionizing rays on other protein bodies of similar chemical structure. Next attention was given to the agents decreasing the negative effects of irradiation. It was stated that in reference to the dosage employed during the sterilization of foods while changing adequately the physical conditions and employing some protective substances it will be possible to obtain sterile gelatine as the result of radiation by means of ionizing rays. Thus obtained sterile gelatine will possess its extremely important physical and organoleptic properties.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Ruediger M., Mayer E.*: Kolloid. Z., 46, 81, 1928. — 2. *Ullmann F.*: Enzyklopädie der technischen Chemie, 5, 577, Berlin-Wiedeń 1930. — 3. *Tołłoczko H., Bobrański B.*: Chemia Organiczna 399, 1954. — 4. *Methods of Analysis.* Association of Official Agr. Chem. 8 th Ed., pp. 364, 1955, AOAC Washington D.C. — 5. *Waksmundzki A.*: Podr. do ćw. z chem. fiz. 50, Warszawa 1950. — 6. *Ostwald W.*: Kleines Praktikum d. Kolloidchemie, str. 76, Drezno-Lipsk 1926. — 7. *Anslow A.*: J. Opt. Soc. Amer., 31, 118, 1941. — 8. *Baker T. T., Davidson L. E.*: Phot. J., 66, 120, 1926. — 9. *Sheppard S. E.*: Soc. Pract. Phot., 12, 332, 1925. — 10. *Reitlinger S. A., Igołkina A. W.*: Biochimija, 4, 23, 1939.
11. *Gatecki A.*: Pozn. Tow. Przyjac. Nauk. Prace Komisji Mat. przyr. T.W., Zeszyt 2, Poznań, 1950. — 12. *Fernau A.*: Biochem. Z., 102, 246, 1920. — 13. *Fernau A., Pauli W.*: Kolloid Z., 30, 6, 1922. — 14. *Fernau A.*: Biochem. Z., 167, 380, 1926. — 15. *Idem, ibid.* 189, 172, 1927. — 16. *Fernau A., Spiegel-Adolf M.*: Biochem. Z., 204, 14, 1929. — 17. *Zukow J. J., Unkowskaja W. A.*: Chem. Abstr., 24, 4708, 1930. — 18. *Chenoch A. M.*: Żurnał Obszcej Chimmii. XI. 10, 776, 1941. — 19. *Pułłowa I.*: Żurnał Obszcej Chimmii, 5, 227, 1935. — 20. *Hannan R. S.*: Department of Scientific and Industrial Research Food Investigation, Special Report, 61, str. 76, London 1955.
21. *Staudinger T.*: Wysokomolekularne połączenia organiczne ONTI, 1935. — 22. *Gerngross O., Hermann K., Abitz W.*: Biochem. Z., 228, 409, 1930. — 23. *Mateles R. J., Goldblith S. A.*, Food Technology V, 12, 11, 633, 1958. — 24. *McArdle T. J., Dasrosier N. W.*: Food Technology, 11, 527, 1955. — 25. *Northrop J.*: J. Gon. physiol., 17, 359, 1934. — 26. *Proctor B. E.*: Nucleonics, 5, 3, 56, 1949. — 27. *Ginger J. D., Levis U. J., Schweigert B. S.*: J. Agr. a. Food Chem., 3, 156, 1955. — 28. *Arnou L. E.*: J. Biol. chem., 110, 43, 1935. — 29. *Meinke W. W.*: Nucleonics V, 12, 10, 37, 1954.

Otrzymano: 26.IV.1959 r.

Adres autora: PZH, Warszawa, Chocimska 24.