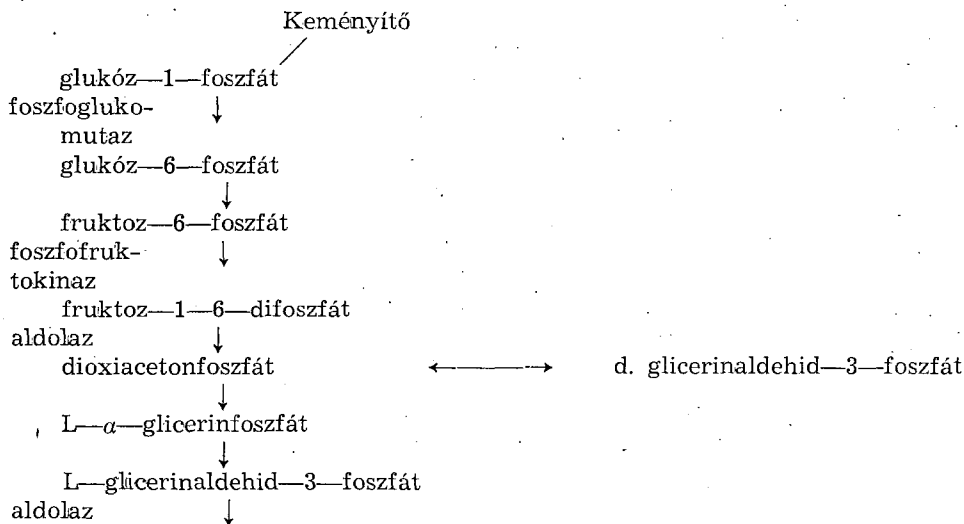
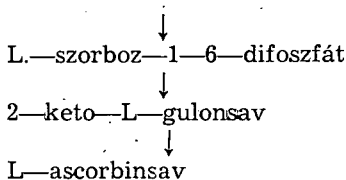


ASCORBINSAV ÉRTÉKEK VIZSGÁLATA SPIROGYRÁN

Írta: WELLESZ TERÉZ

Ismeretes tény az, hogy az ascorbinsav képződése a növényi sejtben számos külső és belső körülménytől függ. Egyes irodalmi adatok szerint azon tényezők befolyásolják, amelyek a fotoszintézisre is hatnak. Így nagymértékben képes növelni az ascorbinsav tartalmat a fény. Számos kísérletet végeztek különböző növényeken és növényi részekben, ahol fényvel való besugárzás következtében az ascorbinsav magasabb szintet mutatott, sötét kontrollhoz viszonyítva. A fényintenzitás növekedését mintegy arányos C-vitamin emelkedés követi, ennek alapján szintézise a fotoszintetikus folyamat másodlagos hatásaként fogható fel. Az ascorbinsav bioszintézisének azonban nem egyedül lehetséges útja az, amely fotoszintetikus folyamatokon vezet át. Koncentrációja növekedhet minden fény kizárásával, teljes sötétben is, ahogy Sugawara, M apson és mások megfigyeléseiből kitűnik. Ebben az esetben keményítőtől glikolízis útján megy végbe a szintézis, amihez természetesen fény nem szükséges [3]. Smith szerint az ascorbinsav képződésének ezen módja a következőképpen ábrázolható:





Amennyiben tehát a vizsgálandó anyagot fénybesugárzásnak tesszük ki, akkor feltehetően a fotoszintetikus folyamat révén megy végbe az ascorbinsav képződése, viszont sötétben a glikolitikus út érvényesül.

D. Appleman és H. T. Pyfrom [1] árpa csíranövényekkel végeztek kísérleteket. Megfigyelték különböző fénytel besugárzott és sötétben tartott növények ascorbinsav tartalmának alakulását. Az összehasonlításnál azt találták, hogy az ascorbinsav koncentráció a kék fénytel besugárzott növényeknél volt a legmagasabb. A sötétben tartott növényeké valamivel alacsonyabb volt, míg a vörös fénytel kezelt növények esetében a legalacsonyabbnak mutatkozott.

A látható fényen kívül más sugárzások is, mint az X-sugarak, és az ultraviola sugarak, igen jelentős változásokat képesek előidézni [2—8]. Ezek a sejten különböző károsodást okozhatnak, elsősorban az enzimszereken keresztül.

Ultraviola besugárzás hatásaként [4] a nucleusban különböző chromosoma abnormalitások jöhetnek létre. Ezenkívül a sugárzás hat a légzésre, növeli a protoplazma viszkozitását, gátolhatja az asszimilációt és a növekedést, megszüntetheti a sejtosztódást. UV-besugárzásra a fehérjék denaturálódnak, peptid kötéseik széthasadnak, amely megváltozások irreverzibiliseknek tekinthetők.

Az UV-besugárzások és az ascorbinsav értékek vizsgálatát jelen dolgozatban *Spirogyra* végeztem.

A *Spirogyra* több sejtől álló fonal. A vegetatív sejtek hengeresek, többszörösen hosszabbak a szélességüknél. A sejtfalet kívülről vékony pektintartalmú hártya borítja. A sejtekben egy vagy több chromatophora van, melynek alakja jellegzetes spirálisan futó szalag. A sejtmag a sejt közepén látható. Előfordulásukat tekintve azt látjuk, hogy az édesvizekre korlátozódnak. Csaknem kizárólag árkokban, lapos tavakban, állandó vagy időszakos vízi pocsolyákban található, főleg a partmenti zónákban. Szennyvízben vagy erős sodrású folyóvízben nem élnek meg [5]. Többnyire az asszimiláció során felszabaduló oxigénbuborékok tartják fenn a fonalakat a víz színén.

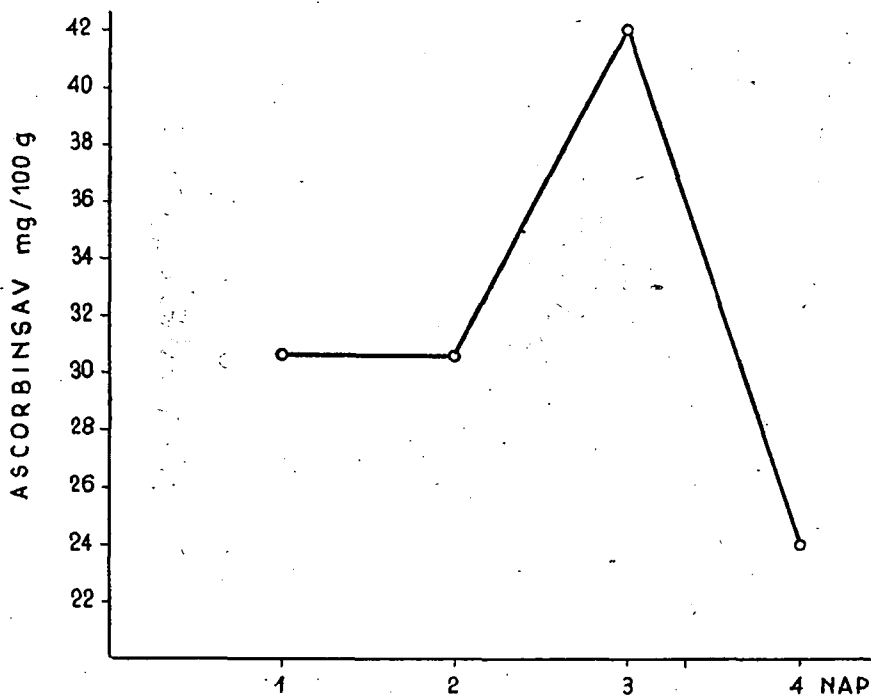
A *Spirogyra* táplálkozását tekintve [6] szénre és nitrogénre nézve autotroph. Az optimális pH igényük 6—8,5 között van. Fényigénye nem magas, a napfény-szegény téli hónapokban is képes fejlődni megfelelően magas hőmérséklet esetén. Hőmérsékleti optimuma 15—22° C között van, de nagyobb károsodás nélkül képes elviselni +35° C-t hosszabb időn keresztül is.

Vizsgálataimat a Szegedi Vágóhid mellett elterülő kisebb állóvízből nyert *Spirogyra* végeztem. A tó vize helyenként egészen tiszta, ezeken a részekben állandóan található volt megfelelő mennyiségű *Spirogyra*. Tekintve, hogy a vizsgált alga-faj természetes körülményei között nem keveredik más

alga-fajokkal, így a begyűjtött anyag minden esetben tiszta állománynak volt tekinthető. A begyűjtést hetenként kétszer végeztem, azonos napszakokban. Az anyagot a laboratóriumban 5—7 napig tudtam tárolni, közben naponta cseréltem rajta a vizet. Hosszabb ideig tartó tárolás következményeként, tekintve, hogy a megváltoztatott környezeti feltételek a természetes szaporodásnak nem kedveztek, a bomlás jelei kezdtek mutatkozni. Ez egyrészt az alga vegetációs periódusának a végét, másrészt a jelenlevő baktériumok tevékenységét igazolja.

A kísérleteket a begyűjtéstől számított 7 napon belül végeztem, tehát még szabályos spirálokkal rendelkező élő anyagon.

Az ascorbinsav kimutatásokat az a -, dipiridiles eljárással végeztem, egy-egy méréshez 5—5 g anyagot használva fel. A koncentrációértékeket 100 g nyers súlyra vonatkoztatva adom meg. Az extractum közönséges szűrőpapíron szűrve meglehetősen nagy mennyiségben tartalmazott kolloidális nagyságrendű anyagokat, ezért többféle szűrőpapírt próbáltam ki, míg végül is a Macheray—Nagel 214. papírral — duplán alkalmazva — értem el a megfelelő tisztaságú kivonatot. A fonalakat a bemérés előtt szűrőpapíron terítettem szét és a fölösleges vízmenyiséget enyhe nyomással távolítottam el. Így elértem azt, hogy minden egyes mérésnél az anyag nedveségi állapota gyakorlatilag azonos volt. Tehát az esetleges különböző víztartalomtól adódó hibalehetőség a kapott értékek összehasonlításánál elhanyagolható.



1. ábra. Változás az ascorbinsav tartalomban a tárolás alatt.

A használt fényforrás Original Hanau típusú kvarclámpa volt. Az alkalmazott szűrő Schott UG 5., melynek áteresztési maximuma $312 \text{ m}\mu$ hullámhossznál van.

A besugárzásokat a sugárzó kamrában végeztem [7]; előzetesen a *Spirogyra* fonalakat egy üveglapra vittem és üvegbotok segítségével nagy felületen oszlattam szét, lehetőség szerint egyenletesen, hogy az egyes egyedek megközelítőleg azonos mértékben kapják a sugarakat. A kontroll vizsgálatoknál hasonlóan jártam el, hogy a fonalak elszakadozásából származó hiba-lehetőséget elkerüljem.

Vizsgálataim egy része arra irányult, hogy megállapítsam a *Spirogyra* ascorbinsav tartalmát normál viszonyok között. Ebből a célból a begyűjtés után közvetlenül vettem mintát az anyagból, még mielőtt a megváltozott környezeti viszonyok befolyásolhatták volna az eredményt, és meghatároztam annak ascorbinsav tartalmát. Több mérést végeztem és azt találtam, hogy a vizsgált alga ascorbinsav koncentrációja $30,6 \text{ mg}/100 \text{ g}$, ami igen jelentős mennyiség, különösen ha összehasonlítjuk a paradicsom megfelelő értékével [9], amely pedig jelentős C-vitamin forrásnak tekinthető.

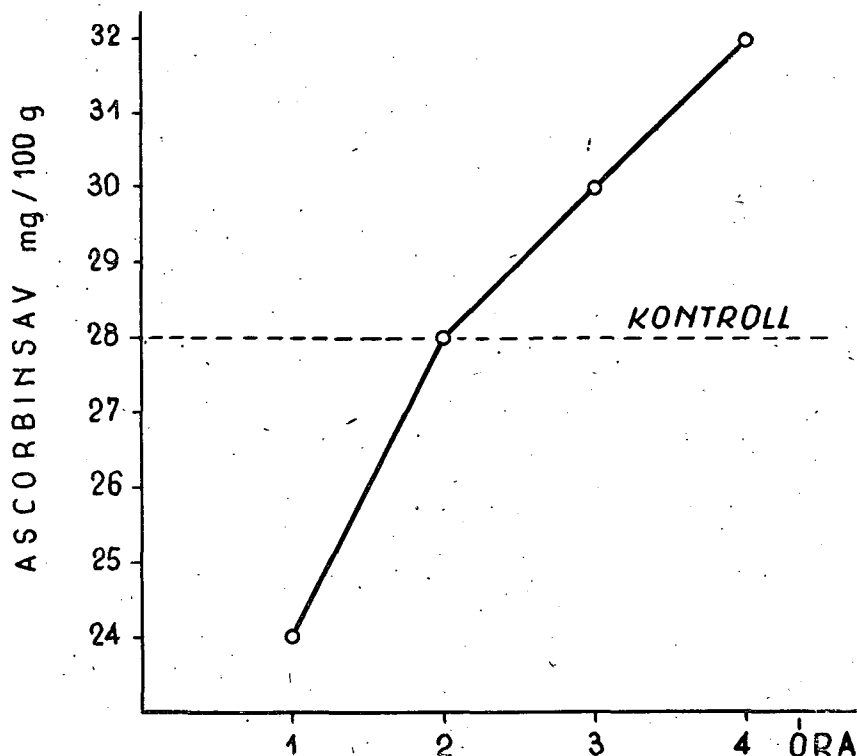
A továbbiakban megfigyeltem, hogyan változik ez az érték a tárolás ideje alatt. A második napon még nem volt megfigyelhető eltérés az ascorbinsav tartalomban ($30,5 \text{ mg}/100 \text{ g}$), a harmadik napon elérte a $42 \text{ mg}/100 \text{ g}$ -ot, majd ismét lecsökkent: a negyedik nap $24 \text{ mg}/100 \text{ g}$ volt (l. 1. ábra). Tehát különbség mutatkozik attól függően, hogy mennyi időt a *Spirogyra* a begyűjtéstől számítva. Ez a különbség abból adódik, hogy a hőmérséklet emelkedése növelte a fotoszintézis intenzitását. Éppen ezért a későbbiekben az egyes adatok összehasonlításánál csak azonos tárolási idejű anyagokat vettem figyelembe.

Megfigyeléseket folytattam arra vonatkozóan, hogy ultraviola besugárzásnak kitett fonalakban létrejöhet-e valamilyen megváltozás az ascorbinsav értéket illetően. A besugárzást szűrő közbeiktatásával végeztem. Az anyag távolsága a szűrőtől 60 cm , a lámpától 74 cm , a megvilágítás ideje 60 perc .

A sugárkezelés befejezése után az anyagot vízbe helyeztem és óránként vettem belőle mintát a meghatározáshoz. A kapott értékeket a 2. ábra szemlélteti. A besugárzás után egy órával az ascorbinsav értéke $24 \text{ mg}/100 \text{ g}$, két óra múlva magasabb: $28 \text{ mg}/100 \text{ g}$, a harmadik órában végzett mérésnél ez az érték tovább növekszik: $30 \text{ mg}/100 \text{ g}$, végül a negyedik órában eléri a $32 \text{ mg}/100 \text{ g}$ -ot. A kontroll érték $28 \text{ mg}/100 \text{ g}$. Az ascorbinsav tehát a sugárzás közvetlen hatásaként lecsökkent, de két óra múlva már elérte a kontroll szintjét, későbbi időpontokban pedig egyre magasabbra emelkedett.

Ugyanezt a vizsgálatot elvégeztem szűrő közbeiktatása nélkül, közvetlen besugárzással is. Így a legrövidebb ultraviola sugaraktól kezdve egészen a látható spektrum tartomány kékesibolya színéig, minden hullámhosszúságú fény jelen volt. Az anyag távolsága a lámpától 50 cm . A sugárkezelést kezdetben 20 percig folytattam. Ez a dózis túlságosan erősnek bizonyult, a fonalak már egy óra múlva elpusztultak, amit a zöld szín megváltozásáról és a mikroszkópi képről tudtam megállapítani. Többféle dózissal próbálkoztam, és azt találtam, hogy a 7 percig tartó besugárzás a maximum, amit a *Spirogyra* fonalak el bírnak viselni a sejtstruktúra látható megbomlása nélkül.

Amikor meghatároztam az ily módon kezelt anyag ascorbinsav értékét, kintűnt, hogy a sugárzás az ascorbinsav tartalomban károsodást idézett elő, amennyiben a koncentráció csökkenést mutat a megfelelő kontrollhoz viszonyítva. A kezelés után 1 órával 22 mg/100 g, két óra múlva emelkedett

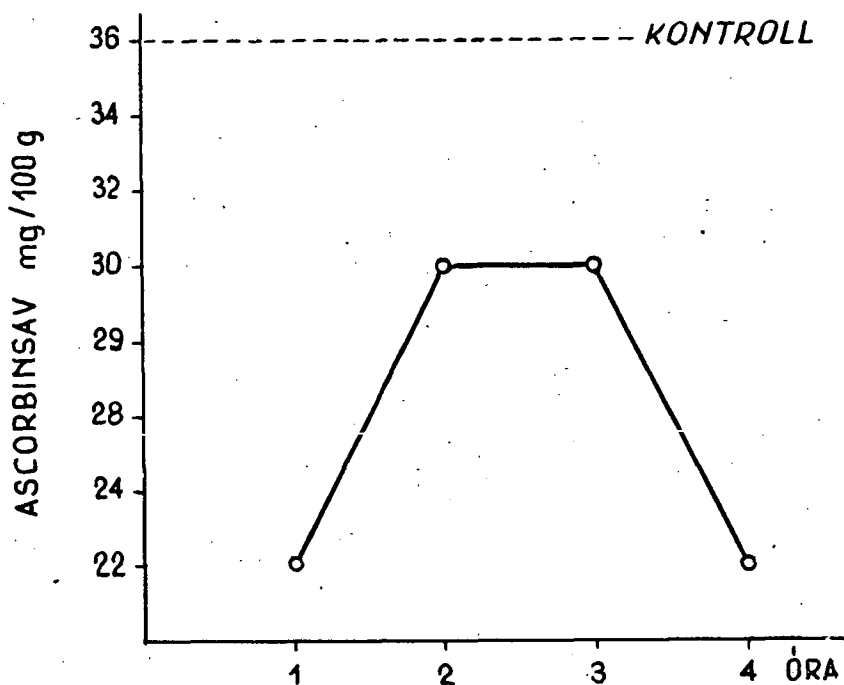


2. ábra. Szűrőn át történő besugárzás hatása az ascorbinsav értékekre.

30 mg/100 g, három óra múlva szintén 30 mg/100 g, a negyedik órában ismét lecsökkent 22 mg/100 g. A kontroll értéke ugyanakkor 36 mg/100 g (l.: 3. ábra).

Vizsgálatokat folytattam még az irányban is, hogy megállapítsam milyen ascorbinsav szint érhető el abban az esetben, ha a sugárkezeléseket fényben, illetve sötétben való tartással kapcsolom össze. Több részre osztottam fel az anyagot. Egyik részt 30 perces besugárzásnak vettem alá (szűrőn keresztül), utána tiszta vízbe üvegedénybe tettem és két napig természetes megvilágításon hagytam. Ebből a besugárzott anyagból egy másik részt fekete papírral bevont edénybe helyeztem (tiszta vízbe) és teljes sötétben hagytam, szintén két napig. Ugyanakkor a sugárkezelésben nem részesült anyagból is egy részt világoson hagytam, egy részt pedig ugyancsak sötétbe helyeztem. A két nap elteltével a sötétben tartott, sugárzással nem kezelt anyag tönkrement, a baktériumok tömeges elszaporodása következté-

ben, ezért nem volt összehasonlítható. Az ultraviola fényel kezelt részek épek maradtak az UV-sugárzás baktericid hatása folytán. A következő alkalommal, mikor megismételtem a kísérletet, a bomlás elkerülése céljából a négy csoport mindegyikéhez egyenlően szétosztva összesen mintegy 50 000 NE penicillint adtam. Két nap múlva meghatároztam az egyes részek ascorbinsav tartalmát (4. ábra). A besugárzott csoportok közül a világosban tartott rész ascorbinsav tartalma 16 mg/100 g; a sötétben tartott részé 24

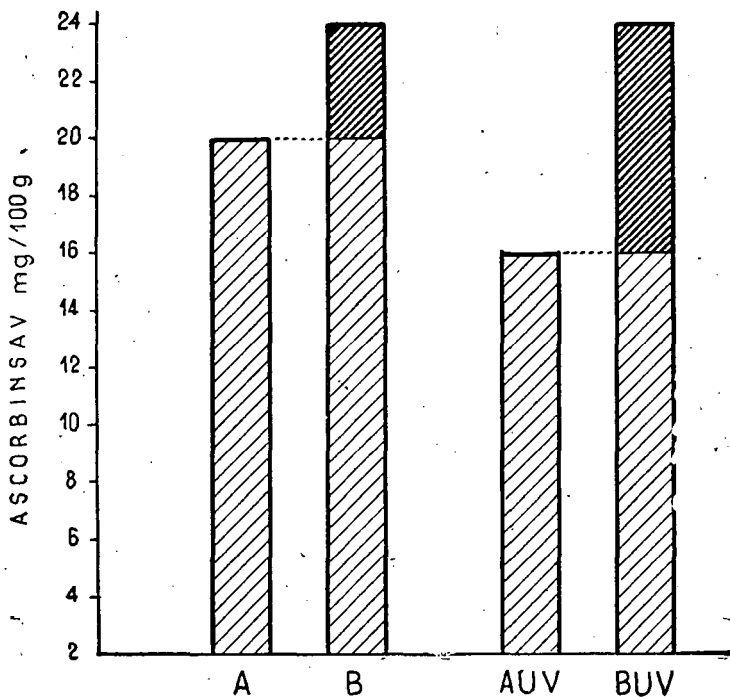


3. ábra. Szűrő nélkül történő besugárzás hatása az ascorbinsav értékekre.

mg/100 g; a sugárzással nem kezelt csoportok közül a világosban tartott rész értéke 20 mg/100 g; a sötétben tartott részé 24 mg/100 g. Tehát az ultraviola besugárzással kezelt *Spirogyrának*, ha azt világosban hagyjuk, két nap alatt lecsökken az ascorbinsav szint a megfelelő kontrolléhoz viszonyítva. Tehát az alkalmazott dózis két nappal a besugárzás után nézve károsította az ascorbinsav bioszintézisét, az algában. Ha a sugárzás után sötétbe helyezett részt vizsgáljuk, ott viszont kitűnik, hogy sötét hatásra az ascorbinsav koncentráció emelkedik. A besugárzásban nem részesült rész ascorbinsav értéke szintén emelkedést mutat sötétben való tartással, ami azt jelenti, hogy sötétben fokozottabb mértékben megy végbe az ascorbinsav szintézise, mint világosban, nyilvánvalóan a Smith által leírt módon (l. fentebb). Ha összehasonlítjuk a két besugárzott csoportot a két nem besugárzottal, a következőket találjuk: a sugárzással nem kezelt részek közül a sötétben tartott

rész ascorbinsav tartalma 20%-kal magasabb, míg a besugárzott részek közül a sötétben tartott rész ascorbinsav tartalma 50 %-kal magasabb a megfelelő (nem besugárzott, illetve besugárzott) világosan tartott részhez, mint kontrollhoz viszonyítva.

Természetesen a téma ezzel nincs kimerítve. Igen nagyszámú vizsgálat szükséges még annak kikutatására, hogy az ultraviola fény milyen körülmények között, hogyan befolyásolja az ascorbinsav bioszintézisét az élő sejten.



A = VILÁGOSBAN TARTOTT

B = SÖTÉTBEN TARTOTT

AUV = SUGÁRKEZELT VILÁGOSBAN TARTOTT

BUV = SUGÁRKEZELT SÖTÉTBEN TARTOTT

4. ábra. UV-sugárzás és sötétben tartás hatása az ascorbinsav tartalomra.

Vizsgálataim során a következő megállapításokra jutottam:

1. A *Spirogyra* ascorbinsav tartalma növekszik szűrőn át történő ultraviola besugárzás hatására.
2. Sötétben tartott fonalak ascorbinsav koncentrációja magasabb, a világos kontrollhoz viszonyítva

3. Sötétben tartott és UV-sugárzással kezelt algánál az ascorbinsav koncentráció nagyobb mértékben növekszik, a sugárzásban nem részesült megfelelő anyaghoz, mint kontrollhoz viszonyítva.

IRODALOM

- [1] Appleman, D. and Pyfrom, H. T.: Changes in catalase activity and other responses induced in plants by red and blue light. *Plant Physiology* 30, 543—549, 1955.
- [2] Curtis, H. J.: The biological effects of radiations. *Ann. Rev. Phys.* 13, 41—65, 1951.
- [3] Franke, W.: Über die Biosynthese des Vitamins C. *Planta* 45, 166—197, 1955.
- [4] Giese, A. C.: Action of ultraviolet radiation on Protoplasm. *Phys. Rev.* 30, 431—458, 1950.
- [5] Langer, S.: A Spirogyrák monografikus feldolgozása. *Folia Cryptogmatica* 9, 1254—1306, 1932.
- [6] Pascher, A.: Die Süßwasser-Flora Mitteleuropas. *Zygnemales*. Heft 9. Fischer Verlag Jena, 1932.
- [7] Wellesz, T.: Ultraviola besugárzás és az ascorbinsav tartalom közötti összefüggésről. *Szegedi Ped. Főisk. Évkönyve*, 149—154, 1958.
- [8] Wellesz, T.: Az ultraviola sugarak hatásának vizsgálata a paradicsomtermés ascorbinsav tartalmának alakulása szempontjából. *Szegedi Ped. Főisk. Évkönyve*, 125—136, 1957.
- [9] Wellesz, T.: Ascorbinsav koncentráció változások UV-besugárzások hatására. *Szegedi Ped. Főisk. Évkönyve*, 75—80, 1959.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА СПИРОГИРЕ

T. Веллес

Автор исследовал изменения содержания аскорбиновой кислоты на спирогире при следующих условиях опыта.

1. Подготовленный подходящим образом материал он облучал ультрафиолетовыми лучами при вставлении фильтра Schott UG 5, и измерял ежечасно изменения.

2. Он облучал непосредственно материал и измерял изменения тоже ежечасно.

3. Он держал спирогиру в темноте, облучал ее временами УФ лучами и измерял изменения спустя два дня. Получались следующие результаты.

1. У первого опыта концентрация поднимается пропорционально времени облучения.

2. У второго опыта содержание аскорбиновой кислоты осталось под уровнем контроля.

3. У третьего опыта держанная в темноте и облученная временами часть давала большие величины, чем держанный на свете контроль.

UNTERSUCHUNG DER ASCORBINSÄUREWERTE AN SPIROGYRA

von

T. WELLESZ

Die Verfasserin hat die Entwicklung des Ascorbinsäuregehalts an *Spirogyra* unter folgenden Bedingungen untersucht:

1. Das entsprechend vorbereitete Material wurde bei Einschaltung eines Schott UG5 Filters einer UV-Bestrahlung ausgesetzt und die Änderungen stündlich gemessen.

2. Das Material wurde der Bestrahlung unmittelbar ausgesetzt und die Werte stündlich gemessen.

3. Das Material wurde im Finstern gehalten, mit UV-Bestrahlungen kombiniert, die Werte nach zwei Tagen gemessen.

Die Untersuchungen haben zu folgenden Resultaten geführt:

1. Bei der ersten Untersuchung zeigte die Konzentration eine sukzessive Steigerung.

2. Bei der 2. Untersuchung blieb das Niveau der Ascorbinsäure hinter dem der Kontrolle zurück.

Bei der 3. Untersuchung lieferte der mit UV-Strahlen behandelte, im Finstern gehaltene Teil einen höheren Wert, als die entsprechende, bei Licht gehaltene Kontrolle.