

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA  
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXII, 9

SECTIO D

1967

---

Katedra i Zakład Chemii Ogólnej, Wydział Lekarski, Akademia Medyczna w Lublinie  
Kierownik: doc. dr Irena Krzeczowska

Irena KRZECZKOWSKA i Stanisław SZCZEPANIAK

### Badania nad składem aminokwasowym torfu. II Analiza ilościowa

Examinations of the Amino Acids Composition of Peat.  
II. A Quantitative Analysis

Podstawowymi substancjami, z których tworzy się humus w glebach i torfach są wg Flaiga (1), lignina i inne związki fenolowe oraz aminokwasy i peptydy. Udział azotu w związkach huminowych wynosi 1—3%, przy czym 30—60% azotu całkowitego związane jest w postaci grup aminowych (7). Dotychczasowe badania pozwalają przypuszczać, że wbudowywanie azotu w cząsteczkę związku huminowego może odbywać się dwiema drogami (8). Jedna z nich polega na przyłączaniu się aminokwasów lub peptydów do chinonów, będących produktami pośrednimi w procesie humifikacji ligniny (3). Druga hipoteza zakłada możliwość tworzenia się połączeń heterocyklicznych 5- lub 6-członowych z grup chinoidowych i aminowych (6).

W poprzedniej naszej pracy (4) określono skład jakościowy aminokwasów w próbkach torfu, pochodzących z tego samego profilu, lecz położonych na różnych głębokościach. Większych różnic w składzie aminokwasowym, w zależności od głębokości pokładu, nie zaobserwowano. Spośród 17 wykrytych aminokwasów 13 występuje w całym profilu torfu, a pozostałe cztery (Cys, Pro., Tyr i Try) nie występują w warstwach położonych wyżej.

W pracy niniejszej postanowiono sprawdzić, czy istnieje jakaś zależność między ilością poszczególnych aminokwasów i głębokością pokładu torfu.

#### MATERIAŁY I METODY

Przedmiotem badań ilościowych były te same próbki torfu, które w poprzedniej pracy (4) posłużyły do oznaczenia jakościowego składu aminokwasów. Ilość poszczególnych aminokwasów określano metodą polegającą na elucji z bibuły barwnego produktu reakcji aminokwasów z ninhydryną i następnym oznaczaniu kolorymetrycznym zabarwionych roztworów. Sposób postępowania był zgodny z danymi zawartymi w publikacji Krzeczowskiej i wsp. (5).

## BADANIA WŁASNE

Analiza jakościowa torfu (4) wykazała obecność 17 aminokwasów. W stosowanym układzie rozpuszczalników, na chromatogramie jednokierunkowym, stwierdzono obecność 14 plam. Metoda rechromatografii pozwoliła stwierdzić, że w trzech plamach znajdują się pary aminokwasów nie rozdzielonych, a mianowicie **Ser z Gli**, **Tre z Glu** i **Leu z Ileu**. W badaniach ilościowych te trzy pary aminokwasów oznaczano łącznie. Rechromatografii plam podwójnych postanowiono tu nie przeprowadzać. Chodziło o to, by wszystkie aminokwasy eluować z tego samego arkusza bibuły, co umożliwiałoby przeprowadzenie oznaczeń wszystkich aminokwasów w tych samych warunkach doświadczalnych. Ilościową zawartość poszczególnych aminokwasów oznaczano w kwaśnych hydrolizatach torfu surowego, uprzednio wysuszonego na powietrzu. Sposób oczyszczania torfu, przygotowywania hydrolizatów i rozdziału aminokwasów na bibule opisano w publikacji poprzedniej (4). Krzywe wzorcowe kreślono w oparciu o cztery różne stężenia dla poszczególnych aminokwasów. Wykaz tych stężeń podaje tabela 1.

Tab. 1. Ilości aminokwasów w  $\mu\text{g}$ , nanoszone na bibułę w celu wykreślenia krzywych wzorcowych  
Quantities of amino acids in  $\mu\text{g}$  placed on chromatographic paper to trace calibration curves

Lp.	Aminokwas	Ilość naniesiona na bibułę			
1	Cys	2,72	5,44	8,16	10,88
2	Liz	7,62	15,24	22,86	30,48
3	His	2,17	4,34	6,51	8,68
4	Arg	3,38	6,76	10,14	13,52
5	Asp	11,32	22,64	33,96	45,28
6	Ser i Gli	6,68	13,36	20,04	26,72
7	Tre i Glu	11,39	22,78	34,17	45,56
8	Ala	3,09	6,18	9,27	12,36
9	Pro	5,52	11,04	16,56	22,08
10	Tyr	4,70	9,40	14,10	18,80
11	Try	2,00	4,00	6,00	8,00
12	Wal	2,43	4,86	7,29	9,72
13	Fen	3,44	6,88	10,32	13,76
14	Leu i Ileu	8,64	17,28	25,92	34,56

Stosunek stężeń par aminokwasów nanoszonych na bibułę łącznie był następujący: **Ser : Gli = 2,35 : 1**, **Tre : Glu = 1 : 2** i **Leu : Ileu = 2 : 1**.

Oznaczenia ekstynkcji przeprowadzono na fotoelektrycznym kolorymetrze produkcji radzieckiej FEK-56. Stosowano filtr zielony i kiuwety o pojemności 5 ml. Otrzymane wyniki zestawiono w tabeli 2.

Tab. 2. Zawartość aminokwasów w 1 g torfu w mg  
Content of amino acids in 1 g of peat in mg

Lp.	Amino- kwas	Nr próbki											Wartość średnia				
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI					
		0-10	40-50	90-100	140-150	190-200	240-250	280-300	340-350	390-400	440-450	490-500					
		Głębokość pokładu poszczególnych próbek w cm															
1	Cys	0,170	—	—	—	—	0,340	—	—	—	—	—	—	0,850	0,500	0,595	0,223
2	Liz	0,228	0,569	1,635	1,152	0,355	2,217	0,639	1,178	3,829	1,693	2,280	1,434	3,829	1,693	2,280	1,434
3	His	0,114	0,306	0,812	0,595	0,152	1,183	0,358	0,657	1,921	0,834	1,120	0,731	1,921	0,834	1,120	0,731
4	Arg	0,845	0,845	1,267	1,267	0,210	2,152	0,210	0,525	2,100	1,700	1,400	1,138	2,100	1,700	1,400	1,138
5	Asp	2,830	0,995	2,250	1,353	1,087	7,400	1,102	2,830	6,700	4,777	6,425	3,433	6,700	4,777	6,425	3,433
6	Ser i Gli	1,525	1,670	3,655	2,260	1,570	2,350	1,570	3,552	3,450	3,340	2,292	2,385	3,450	3,340	2,292	2,385
7	Glu i Tre	4,665	1,802	3,332	2,429	1,925	4,675	2,312	5,802	7,930	4,550	6,185	4,146	7,930	4,550	6,185	4,146
8	Ala	1,820	0,580	1,400	0,955	0,882	2,867	1,100	2,850	3,200	2,317	2,700	1,880	3,200	2,317	2,700	1,880
9	Pro	1,380	—	—	—	—	3,450	—	—	5,130	2,760	2,070	1,345	5,130	2,760	2,070	1,345
10	Tyr	1,275	0,427	0,747	0,640	0,235	7,925	0,292	1,925	1,250	1,070	8,050	2,167	1,250	1,070	8,050	2,167
11	Try	—	—	—	—	—	—	—	0,500	0,300	0,300	0,400	0,136	0,300	0,300	0,400	0,136
12	Wal	1,215	0,365	0,730	0,485	0,425	2,187	0,450	1,700	2,777	1,735	2,430	1,318	2,777	1,735	2,430	1,318
13	Fen	1,050	0,287	0,860	0,572	0,405	2,770	0,250	1,225	2,150	1,147	1,642	1,123	2,150	1,147	1,642	1,123
14	Leu i Ileu	2,230	0,830	1,660	1,250	0,747	3,240	0,995	2,027	3,325	1,850	3,600	1,978	3,325	1,850	3,600	1,978
Ilość wszystkich aminokwasów		19,347	8,676	17,348	12,980	7,993	42,756	9,278	24,771	44,912	28,573	41,189	23,438	44,912	28,573	41,189	23,438

Kolumny tabeli 2 (od I do XI) obejmują ilości poszczególnych aminokwasów, znajdujące się w określonej próbce torfu, położonej na danej głębokości. W kolumnie ostatniej podano wartość średnią z ilości danego aminokwasu, znalezionych we wszystkich próbkach. W rzędach poziomych podane są ilości poszczególnych aminokwasów, jakie znajdują się w próbkach torfu, różniących się między sobą głębokością pokładu. Rząd ostatni obejmuje sumaryczną zawartość wszystkich aminokwasów w określonej próbce torfu.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Dane liczbowe zawarte w rzędach poziomych tab. 2 wskazują na brak korelacji między zawartością poszczególnych aminokwasów w hydrolizatach torfu i głębokością jego pokładu. Ilość aminokwasów we wszystkich próbkach torfu zmienia się w sposób nieregularny. Można jedynie zauważyć, że zawartości niemal wszystkich aminokwasów są wyraźnie wyższe w próbkach VI, IX i XI, a więc w środkowych i najgłębszych warstwach torfu. Spośród aminokwasów wykrytych w badanym torfie najliczniej występują: **Asp, Tre, Glu, Ala** i **Tyr**. W najmniejszych ilościach zawarte są: **Cys, His** i **Try**. W pobliżu wartości średniej występują pozostałe aminokwasy, tj. **Liz, Arg, Ser** z **Gli, Pro, Val** oraz **Leu** z **Ileu**. Te dane skłaniają do twierdzenia, że w skład substancji humusowych badanego torfu, spośród aminokwasów, w przeważającej ilości wchodzi: **Asp, Glu, Tre, Ala** i **Tyr**.

Wartości liczbowe zawarte w ostatnim rzędzie tab. 2 świadczą o tym, że nie ma ścisłej zależności między sumaryczną zawartością aminokwasów w hydrolizacie torfu i głębokością jego pokładu. Niemniej jednak pewne prawidłowości daje się zauważyć. Średnia zawartość wszystkich aminokwasów w jednym gramie torfu wynosi 23,438 mg. Wartości wyższe od średniej znajdują się w próbkach VI, VIII, IX, X i XI. Zatem w warstwach torfu położonych najgłębiej sumaryczna ilość aminokwasów jest większa niż w torfie położonym tuż pod powierzchnią ziemi. Wyniki te są zgodne z rezultatami badań przeprowadzonych pod kierunkiem Fl a i g a (2) w Instytucie Biochemii Gleby w Brunszwiku. Ligninę otrzymaną ze słomy poddawano tam procesowi humifikacji i stwierdzono, że ilość aminokwasów znajdujących się w badanym materiale wzrastała wraz z przedłużaniem się czasu trwania humifikacji. Tak np. w ligninie wyizolowanej ze świeżej słomy ilość azotu aminowego wynosiła 0,54%, a po 260 dniach humifikacji 3,14%.

Nasze badania wskazują, że stopień humifikacji masy torfowej jest uzależniony od głębokości pokładu torfu. Im głębiej jest torf położony tym więcej znajduje się w nim związanych aminokwasów, tym dalej zaszedł proces humifikacji zawartego w nim materiału roślinnego.

## PIŚMIENNICTWO

1. Flaig W.: Verh. der II. u. IV Komm. Intern. Bodenkundl. Gesellschaft, Hamburg 1958, tom II, 11, cyt. za Trojanowski J.: Post. Biochem. 7, 543—560, 1961.
  2. Flaig W.: Fourth Intern. Congr. of Biochem., Biochemistry of Wood, Pergamon Press, London 1958, vol. II, 227. cyt. za Trojanowski J.: Post. Biochem., 7, 543—560, 1961.
  3. Horner L., Sturm K.: Ann. 608, 128, 1957, cyt. za Trojanowski: Post. Biochem., 7, 543—560, 1961.
  4. Krzeczowska I., Szczepaniak S.: Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Lublin, Sec. D, 21, 199—205, 1966.
  5. Krzeczowska I., Iskierko J., Klimek J.: Farm. Polsk. 15, 35—39, 1959.
  6. Kuhn R., Hammer I.: Chem. Ber. 84, 91, 1951.
  7. Scheffer F., Ulrich B.: Lehrbuch der Agrikulturchemie, III, Stuttgart 1960, 50.
  8. Trojanowski J.: Post. Biochem., 7, 543—560, 1961.
- Pracę otrzymano 31 III 1967.

**Исследования аминокислотного состава торфа.****II. Количественный анализ**

## Резюме

Исследовалось содержание отдельных аминокислот в гидролизатах сырого торфа в зависимости от глубины пласта.

Применялся метод элюирования цветных пятен из бумажной хроматограммы. Установлено отсутствие зависимости между количеством отдельных аминокислот и глубиной пласта.

Суммарное содержание всех аминокислот было наибольшее в самых глубоких пластах торфа.

В гумусе исследуемого торфа больше всего встречаются следующие аминокислоты: аспаргиновая кислота, треонин, глютаминовая кислота, аланин и тирозин. В меньших количествах находится цистин, гистидин и триптофан.

**Examinations of the Amino Acids Composition of Peat.****II. A Quantitative Analysis**

## Summary

The content of different amino acids in raw peat hydrolyzates was studied in relation to the depth of the bed. The method of elution of coloured spots from paper chromatograms was applied. No relationship

was found between the quantity of a given amino acid and the depth of the peat bed. The content of all amino acids was found to be highest in the lowest layers of peat.

In the humic substance of the examined peat, the following amino acids were found in large quantities: aspartic acid, threonine, glutamic acid, alanine, and tyrosine. Cystine, histidine and tryptophan occurred in smaller quantities.