

W. GRZESIUK

Katedra Chemii Rolnej WSR w Olsztynie
Kierownik prof. dr M. Koter

PRZEMIANY WOLNYCH AMINOKWASÓW PODCZAS ROZKŁADU NAWOZÓW ORGANICZNYCH (KOMPOSTY, OBORNIK)

Wstęp

Prace traktujące o rozkładzie nawozów organicznych poświęcały do lat ostatnich niewielką tylko uwagę przemianom aminokwasowym (10, 11). Możliwość jednak pobierania aminokwasów przez rośliny i korzystania z nich jako źródła azotu (4, 14) zwróciła zainteresowanie badaczy na występowanie tego rodzaju związków w glebie (12, 13, 15, 16, 17, 18). Według tych danych skład aminokwasowy związków białkowych występujących w glebie jest na ogół podobny do składu aminokwasowego białek roślinnych, zwierzęcych i bakteryjnych. Zawartość wolnych aminokwasów w glebie jest jednak niewielka (12, 13). W piśmiennictwie polskim nieliczne dane o występowaniu azotu „aminowego” w oborniku znajdujemy w pracach B. Niklewskiego (10, 11).

Rozpowszechniona ostatnio metoda chromatografii bibułowej umożliwia bardziej dokładne badania aminokwasów w materiałach biologicznych. Niniejsza praca, która stanowi odcinek badań nad rozkładem nawozów organicznych, dotyczy zawartości wolnych aminokwasów podczas fermentacji kompostów i obornika.

Materiał i metodyka

Analizie poddano następujące nawozy organiczne:

A. Komposty polowe:

- 1) łubinowy (łubin żółty w czasie kwitnienia + 10% gliny);
- 2) łubinowo-torfowy (łubin żółty + torf z torfowiska niskiego (2 : 1) + 10% gliny);
- 3) łubinowo-słomiasty (łubin żółty + słoma żytnia (1 : 1) + 10% gliny).

B. Komposty laboratoryjne:

- 1) łubinowy (mączka łubinowa);
- 2) łubinowy + 25% gliny;

- 3) słomiasty (sieczka słomy żytniej + 25% gliny + CaCO_3 + NPK);
- 4) torfowy (torf z torfowiska wysokiego + 25% gliny + CaCO_3 + NPK).

C. Obornik bydlęcy słomiasty.

Komposty polowe układano warstwami w stosy o wymiarach $2 \times 5 \times 1,5$ m. Okres fermentacji trwał 2 miesiące. Temperatura w początkowym okresie wahała się w granicach $40\text{--}70^\circ\text{C}$, przy czym z reguły była wyższa w kompostach słomiastych niż torfowych. Próbkę do analiz pobierano co 15 dni, począwszy od 3 dnia po założeniu stosu. Materiał pobierano przy pomocy rury metalowej o średnicy 7 cm z całej grubości stosu w pięciu jego miejscach. Próbkę utrwalono przy pomocy pary wodnej w sterylizatorze w ciągu 30 min. w temperaturze 100°C , następnie suszono je w suszarce promiennikowej w temperaturze $35\text{--}40^\circ\text{C}$.

Komposty laboratoryjne założono w wazonach Mitscherlicha. Rozdrobiony, powietrznie suchy materiał wyjściowy dokładnie mieszano z dodatkami i doprowadzono do 70% wilgotności. Rozkład trwał również 2 miesiące. Temperatura podczas fermentacji była znacznie niższa niż w kompostach polowych i wahała się w granicach $23\text{--}35^\circ\text{C}$. Próbkę do analiz (średnie z całego wazonu) pobierano co 15 dni.

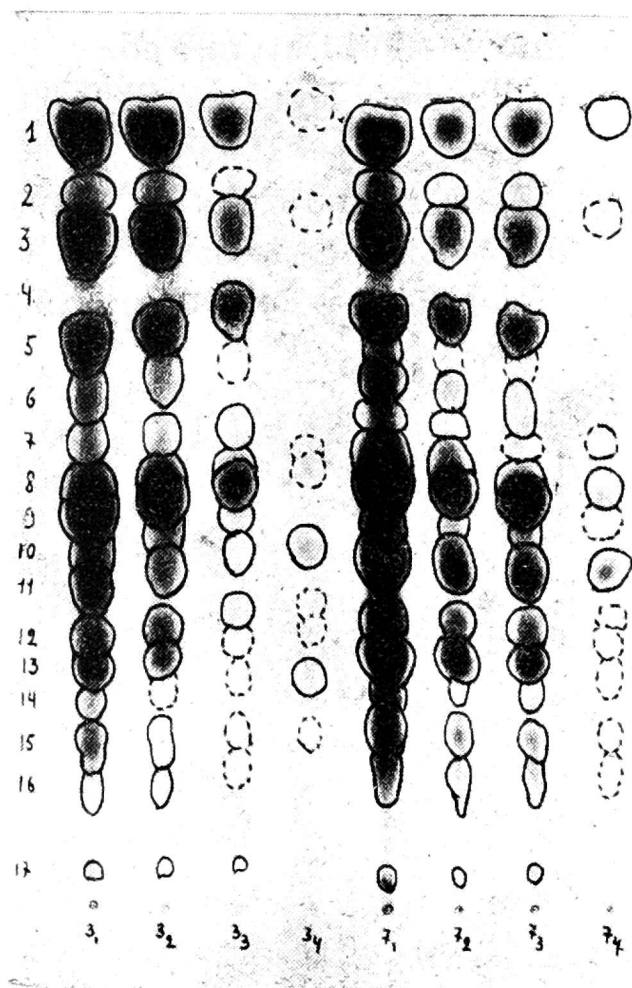
Analizowany obornik pochodził z Majątku Doświadczalnego Posorty. Był on przechowywany metodą zimnej fermentacji w przyzmacach. Dokładniejsza jego charakterystyka zawarta została w pracy T. Mazura (9).

Wysuszony materiał mielono i ekstrahowano w niżej podany sposób: 5 g kompostu (czy obornika) zadawano 70 ml 70% etanolu i wytrząsano na rotatorze w ciągu 2 godzin. Następnie mieszaninę odstawiono na 12 godzin i z kolei odwirowano. Roztwór zadawano 3-krotną ilością chloroformu, wyklócano i pozostawiano na okres 1 doby w rozdzielaczu. Następnego dnia oddzielono warstwę chloroformową od roztworu właściwego. Ten ostatni odparowywano w temperaturze $35\text{--}40^\circ\text{C}$ w suszarce próżniowej. Suchą pozostałość rozpuszczono w 1,5 ml 10% izopropanolu i analizowano chromatograficznie. Zastosowano wstępującą chromatografię bibułową jednokierunkową. Używano bibuły Whatman nr 3. Rozpuszczalnikiem był roztwór n-butanolu, wody i kwasu octowego (4 : 1 : 1). Aminokwasy wywoływano ninhydriną. Plamy indentyfikowano przy pomocy porównań z roztworami standardowymi przy równoczesnym uwzględnieniu wskaźników R_f (3,7).

Wyniki

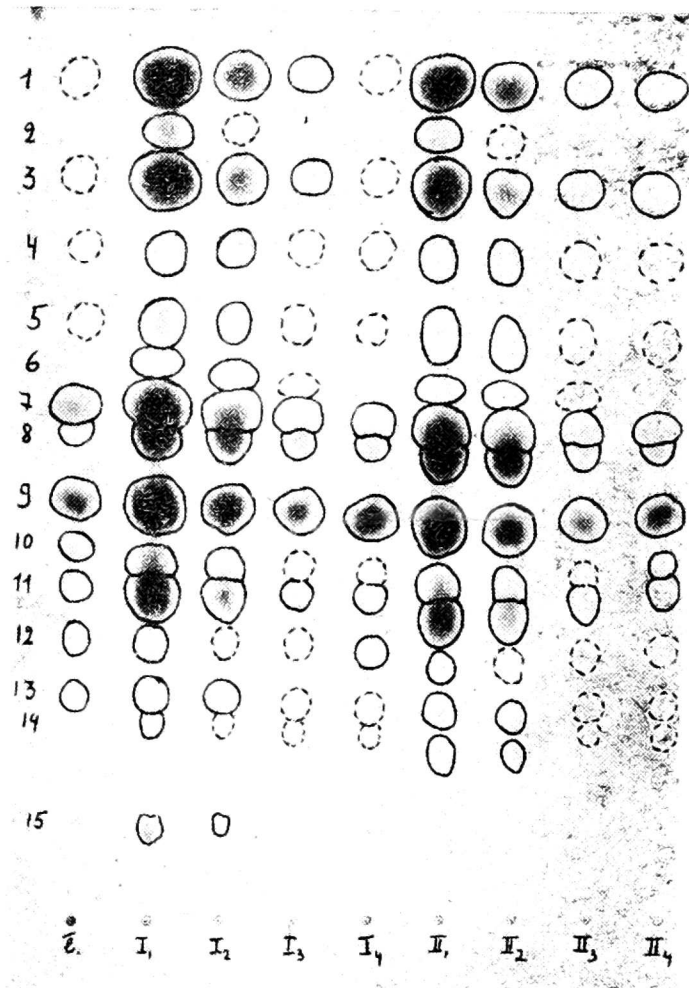
Zawartość aminokwasów w kompostach polowych badano w czasie fermentacji stosów. Rys. 1 przedstawia chromatogramy wolnych amino-

kwasów kompostów: łubinowo-torfowego (3₁, 3₂, 3₃, 3₄) i łubinowo-słomiastego (7₁, 7₂, 7₃, 7₄).



Rys. 1. Chromatogramy wolnych aminokwasów w procesie fermentacji kompostów polowych: łubinowo-torfowego (3₁, 3₂, 3₃, 3₄) i łubinowo-słomiastego (7₁, 7₂, 7₃, 7₄)

Kolejne liczby w linii pionowej oznaczają: 1 — leucyna, 2 — fenyloalanina, 3 — walina, 4 — nieoznaczony, 5 — kwas γ-aminomasłowy, 6 — tyrozyna, 7 — prolina, 8 — treonina, 9 — alanina, 10 — nieoznaczony, 11 — kwas glutaminowy, 12 — glicyna + seryna, 13 — kwas asparaginowy, 14 — arginina, 15 — asparagina, 16 — lizyna, 17 — cystyna



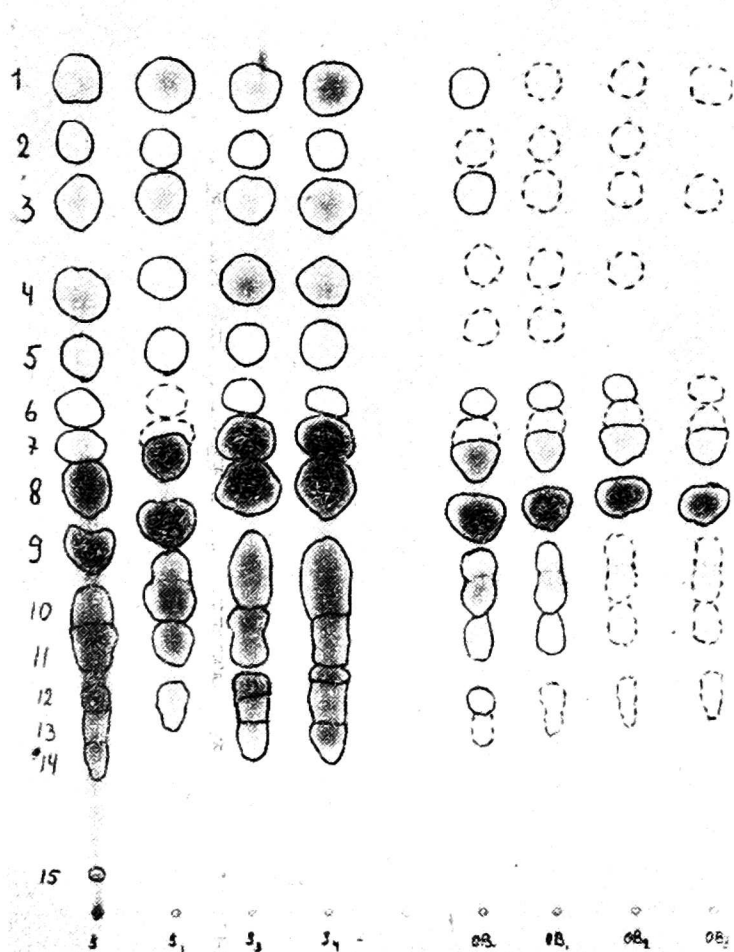
Rys. 2. Chromatogram wolnych aminokwasów podczas fermentacji kompostów laboratoryjnych: łubinowego (I₁, I₂, I₃, I₄) i łubinowego z dodatkiem gliny (II₁, II₂, II₃, II₄)

ł — mączka łubinowa przed fermentacją. Liczby w linii pionowej oznaczają następujące aminokwasy: 1 — leucyna, 2 — fenyloalanina, 3 — walina, 4 — kwas γ-aminomasłowy, 5 — tyrozyna, 6 — prolina, 7 — treonina, 8 — alanina, 9 — kwas glutaminowy, 10 — glicyna + seryna, 11 — kwas asparaginowy, 12 — arginina, 13 — asparagina, 14 — lizyna, 15 — cystyna

Na początku doświadczenia obydwie komposty posiadały jednakową liczbę wolnych aminokwasów. Były to: 1 — leucyna, 2 — fenyloalanina, 3 — walina, 4 — nieoznaczony, 5 — kwas γ-aminomasłowy, 6 — tyrozyna, 7 — prolina, 8 — treonina, 9 — alanina, 10 — nieoznaczony, 11 — kwas glutaminowy, 12 — glicyna + seryna, 13 — kwas asparaginowy, 14 arginina, 15 — asparagina, 16 — lizyna, 17 — cystyna. Spośród wymienionych związków w większych ilościach występowały leucyna, walina, kwas γ-aminomasłowy, alanina, kwas glutaminowy. W miarę rozkładu materii organicznej ilość wolnych aminokwasów malała. Po upływie

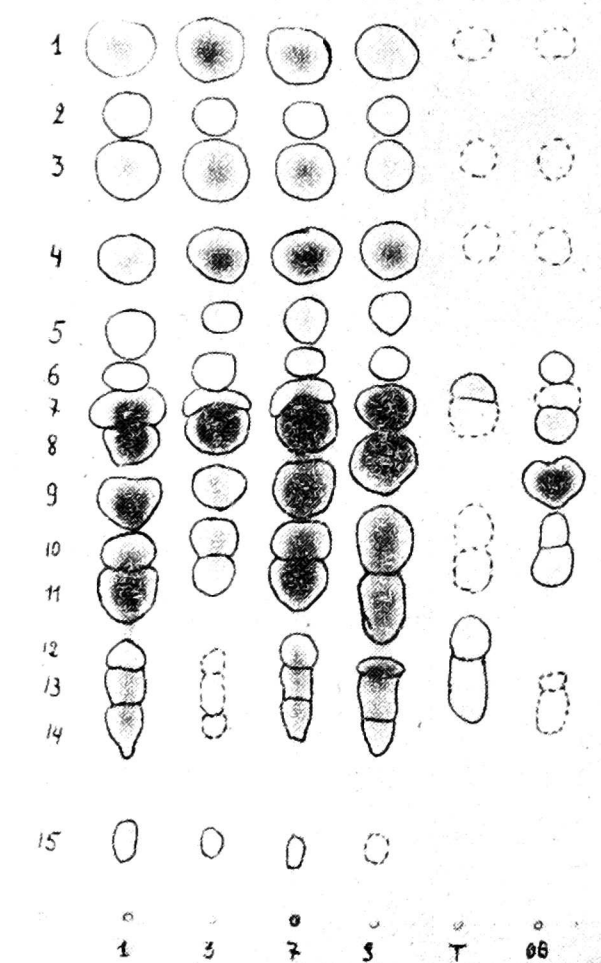
dwóch miesięcy w kompoście łubinowo-torfowym w znacznych ilościach pozostały jedynie dwa aminokwasy: arginina i kwas glutaminowy oraz ślady kilku innych aminokwasów. Podobnie przedstawia się dynamika wolnych aminokwasów w kompoście łubinowo-słomiastym, gdzie po 2 miesiącach występowały zaledwie 3 aminokwasy. Były to: leucyna, treonina i kwas glutaminowy.

Komposty łubinowe laboratoryjne (rys. 2) a mianowicie: łubinowy (I₁, I₂, I₃, I₄) i łubinowy z gliną (II₁, II₂, II₃, II₄) posiadały te same aminokwasy co i komposty łubinowe zakładane w warunkach polowych. Różniły



Rys. 3. Chromatogram wolnych aminokwasów w procesie fermentacji kompostu słomiastego (S₁, S₃, S₄) oraz obornika (OB, OB₁, OB₂, OB₃). S — słoma przed fermentacją

Kolejne liczby oznaczają aminokwasy: 1 — leucyna, 2 — fenyloalanina, 3 — walina, 4 — kwas γ -aminomasłowy, 5 — tyrozyna, 6 — prolina, 7 — treonina, 8 — alanina, 9 — kwas glutaminowy, 10 — glicyna + seryna, 11 — kwas asparaginowy, 12 — arginina, 13 — asparagina, 14 — lizyna, 15 — cystyna



Rys. 4. Chromatogram wolnych aminokwasów po miesiącu fermentacji różnych nawozów organicznych

Oznaczenia w linii poziomej: 1 — polowy kompost łubinowy z gliną, 3 — polowy kompost łubinowo-torfowy, 7 — polowy kompost łubinowo-słomiasty, 9 — laboratoryjny kompost słomiasty, T — laboratoryjny kompost torfowy, OB — obornik. Liczby w linii pionowej oznaczają aminokwasy: 1 — leucyna, 2 — fenyloalanina, 3 — walina, 4 — kwas γ -aminomasłowy, 5 — tyrozyna, 6 — prolina, 7 — treonina, 8 — alanina, 9 — kwas glutaminowy, 10 — glicyna + seryna, 11 — kwas asparaginowy, 12 — arginina, 13 — asparagina, 14 — lizyna, 15 — cystyna

się one jednak zawartością kwasu γ -aminomasłowego, którego w kompostach laboratoryjnych było znacznie mniej. Prawdopodobnie następowało to w wyniku wzmożonej dekarboksylacji kwasu glutaminowego, zachodzącej w stosunkowo wysokiej temperaturze fermentacji kompostów polowych.

W miarę rozkładu ilość aminokwasów malała i po 2 miesiącach w większych ilościach występowały w kompoście łubinowym kwas glutaminowy, alanina i treonina, a w kompoście łubinowym z dodatkiem gliny kwas glutaminowy, alanina, treonina, walina i leucyna.

Skład wolnych aminokwasów kompostu słomiastego (S_1 , S_2 , S_3 , rys. 3) i obornika (OB, OB_1 , OB_2 , OB_3 rys. 3) nie różnił się zbytnio od nawozów poprzednio omówionych. W kompoście słomiastym w większej ilości występowały kwas glutaminowy, alanina oraz aminokwasy zasadowe, tj. związki o małej wartości R_f . W składzie aminokwasowym obornika zdecydowanie dominował kwas glutaminowy. W miarę upływu czasu fermentacji ilość aminokwasów w oborniku malała, natomiast w kompoście słomiastym raczej się zwiększała.

Kompost torfowy z dodatkiem NPK (rys. 4 T) cechował się minimalną zawartością wolnych aminokwasów, co wskazywało na bardzo słabą biologiczną aktywność tego rodzaju kompostu. W większych ilościach wykryto w nim treoninę i kwas asparaginowy. Reszta aminokwasów występowała w śladach lub była niewykrywalna stosowaną metodą.

Wykryte podczas rozkładu nawozów organicznych wolne aminokwasy wchodzi, oprócz kwasu γ -aminomasłowego, w skład białek roślinnych (1), toteż ich obecność była zrozumiała. Natomiast występowanie wśród tych związków znacznej ilości kwasu γ -aminomasłowego było prawdopodobnie rezultatem dekarboksylacji części kwasu glutaminowego (7, 8). Obecność tego związku stwierdzono także w różnych rodzajach gleb (2, 15).

Jak już wspomniano wyżej, jakościowy skład aminokwasów w badanych nawozach organicznych, poza kompostem torfowym, prawie się nie różnił (rys. 4). Natomiast istniały wyraźne różnice ilościowe. Najwięcej wolnych aminokwasów zawierały komposty łubinowe, następnie zaś kompost słomiasty z dodatkiem NPK. Znacznie mniej omawianych związków było w oborniku i zupełnie mało w kompoście torfowym.

Wspólną cechą badanych nawozów organicznych, wyłączając kompost torfowy, była duża zawartość kwasu glutaminowego. Oprócz tego komposty łubinowe i słomiasty miały znaczne ilości alaniny i kwasu asparaginowego.

Analizując dynamikę poszczególnych aminokwasów w procesie fermentacji kompostów łubinowych i obornika należy stwierdzić, że ich ilość malała z różną szybkością. Najdłużej pozostawały w stosach kwas gluta-

minowy oraz alanina i treonina. Pozostałe aminokwasy zanikały pod koniec drugiego miesiąca fermentacji. Obecność w kompostach na przestrzeni dwóch miesięcy ich fermentacji znacznych ilości kwasu glutaminowego oraz jego pochodnych nie mogły być uwarunkowane tylko dużą zawartością tych związków w białkach roślinnych (1), ani też ich słabym rozkładem (5, 6). Należy więc przypuszczać, że związki te były w jakimś stopniu pośrednim ogniwem w przemianach innych aminokwasów. Potwierdzeniem tego przypuszczenia był w pewnej mierze fakt, że ilościowy skład wolnych aminokwasów w kompostach znacznie odbiegał od zawartości tych związków w białkach roślin kompostowanych (1). Białka te zawierały znacznie więcej argininy i lizyny niż stwierdzono ich w stanie wolnym w kompostach.

Biorąc pod uwagę dynamikę wolnych aminokwasów, należy sądzić, że zasadnicza fermentacja białek w kompostach łubinowych i oborniku trwała około 2 miesięcy. Nie można tego powiedzieć o kompoście słomiastym, którego dynamika wolnych aminokwasów w ciągu 2-miesięcznej fermentacji wskazuje na powolniejszy rozkład jego białek.

Wnioski

1. W badanych kompostach i oborniku stwierdzono obecność 15 wolnych aminokwasów, wśród których dominują: kwas glutaminowy, alanina, treonina, kwas asparaginowy, leucyna, walina, kwas γ -aminomasłowy.

2. Największe ilości wolnych aminokwasów cechują komposty łubinowe. Znaczne ilości omawianych związków występują także w kompoście słomiastym z dodatkiem NPK, minimalne zaś ich ilości spotyka się w kompoście torfowym z torfem torfowiska wysokiego.

3. W kompostach łubinowych przeważają ilościowo aminokwasy o wysokiej wartości R_f , natomiast w słomiastym o niskiej, w oborniku zaś dominuje wyłącznie kwas glutaminowy.

4. W procesie fermentacji kompostów łubinowych i obornika zmniejsza się zarówno ilość, jak i liczba wolnych aminokwasów. Po dwóch miesiącach większość z nich występowała w ilościach śladowych, co wskazuje, że okres zasadniczej fermentacji tych nawozów organicznych trwał około 2 miesięcy.

5. W kompoście słomiastym zawartość wolnych aminokwasów w miarę ich rozkładu wzrastała, co świadczy o wolniejszym rozkładzie tego rodzaju kompostu.

LITERATURA

1. Благовieszczенский А. В.: Биохимия обмена азотсодержащих веществ у растений. Москва 1958.

2. Bremner I. M.: The amino acid composition of the protein material in soil. *Biochem. Jour.*, t. 47, nr 5, 1960.
3. Chromatografia: Red. I. Blauth-Opieńska, A. Waksmundzki, M. Kański. Warszawa 1957.
4. Dietz R.: Über den Einfluss von Aminosäuren auf die höhere Pflanze. *Die Bodenkultur.*, t. 10, nr 2, 1959.
5. Greenwood D. I., Lees H.: Studies of the decomposition of amino acids in soil I. *Plant a. Soil.*, t. 7, nr 3, 1956.
6. Greenwood D. I., Lees H.: Studies of the decomposition of amino acids in soil II. *Plant a. Soil.*, t. 12, nr 1, 1960.
7. Grzesiuk St., Kulka K.: Wolne aminokwasy dojrzewającego ziarna zbóż R.N.R., t. 83-A-1.
8. Kaniuga Z.: Metabolizm aminokwasów i białek. Zagadnienia metabolizmu roślin w świetle izotopowej metodyki badań. Pod red. I. Chmielewskiej, Z. Kasprzykównej, W. Brzeskiego. Warszawa 1960.
9. Mazur T.: Badania nad przechowywaniem obornika z dodatkiem gliny i jego wartością nawozową. *Zeszyty Naukowe WSR Olsztyn*, t. 10, 1960.
10. Niklewski Br.: Wpływ bakterii nitryfikacyjnych na bilans azotowy nawozu stajennego. R.N.R., t. 9, 1923.
11. Niklewski Br., Eysymontt J., Kamiński Z.: Badania nad gorącą fermentacją obornika (metodą H. Krantza). R.N.R. Leśn., t. 36, 1936.
12. Payne T., Rouatt I., Katnelson H.: Detection of free amino acids in soil. *Soil Sci.*, t. 82, nr 6, 1956.
13. Putnam D. H., Schmidt E. L.: Studies on the free amino acid fraction of the soils. *Soil. Sci.*, t. 87, nr 1, 1959.
14. Ratner E. I., Kołosow I. I., Uchina I. F., Dobrochotwa I. N., Kazyto O. N.: Ob uswojenii rastienijami aminokisłot w kaczestwie istocznika azota. *Izw. AN SSSR, ser. biol.*, nr 6, 1956.
15. Sowden F. I., Parker D. I.: Amino nitrogen of soils and certain fractions isolated of them. *Soil Sci.*, t. 76, nr 3, 1953.
16. Sowden F. I.: Estimation of amino acids in soil hydrolizates by the Moore and Stein Method. *Soil Sci.*, t. 80, nr 3, 1955.
17. Sowden F. I.: Distribution of amino acids in selected horizons of soil profiles. *Soil Sci.*, t. 82, nr 6, 1956.
18. Stevenson F. J.: Effect of some long-time rotations on the amino acid composition of the soil. *Soil Sci soc. proc.*, t. 20, nr 20, 1956.