

**DIE VERTEILUNG DER FREIEN AMINOSÄUREN  
IN KARTOFFELKNOLLEN UND IHRE BEEINFLUSSUNG DURCH  
„JAROWISATION“**

**II. PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DER FREIEN  
AMINOSÄUREN DES KARTOFFELSAFTES**

(Physiologische Studien über die Kartoffelpflanze VIII.)

Von

I. SZALAI

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität, Szeged  
(Eingegangen am: 8. April, 1957)

**Einleitung**

In meiner vorherigen Mitteilungen (12) wies ich darauf hin, dass im Laufe der »Jarowisation« der freie Aminosäuregehalt der Kartoffelknollen bedeutend und schnell zunimmt und dann später — je nach der Entwicklung der »Keime« — der Gesamtaminosäuregehalt verringert wird. Es wäre nicht uninteressant zu erfahren, ob wohl von den freien Aminosäuren — die übrigens nur in ganz geringen Mengen vorhanden sind — einige nicht eine besondere Stellung einnehmen; gleich ob deshalb, weil ihre Menge bedeutend gesetzmässig verändert wird, oder aber deshalb, weil aus der Anwesenheit grösserer Mengen derselben auf ihre höhere physiologische Bedeutung geschlossen werden kann. Insbesondere würden uns drei Gesichtspunkte interessieren, namentlich die quantitative Veränderung des *Tryptophans*, *Tyrosins* und *Arginins*, deren grosse physiologische Bedeutung in vieler Hinsicht noch ungeklärt ist, ferner die quantitative Verteilung der drei Grundaminosäuren, d. h. der *Asparagin-* und *Glutaminsäure* sowie des  *$\alpha$ -Alanins* und schliesslich die Beteiligung der schwefelhaltigen Aminosäuren, insbesondere des tripeptiden *Glutathions*, welches einerseits als Redox-System, andererseits als mobile Schwefelverbindung (4) in der Keimung der Knollen eine sehr wichtige Rolle spielt. Zur Entscheidung dieser Frage schien die papierchromatographische Untersuchung der Aminosäuren am zweckentsprechendsten zu sein.

**Material und Methoden**

Es wurden die Sorten *Kisvardaer Rose* und *Ella* untersucht. Die Knollen wurden entsprechend Abb. 1 — in die Sektoren A, B, C, und D zerschnitten, welche Bezeichnung durch die ungleichmässige Verteilung der Stärke, der N-haltigen Sub-

stanzen und des C-vitamins innerhalb der Knolle, sowie die bipolare morphologisch-anatomische Struktur derselben angezeigt war.

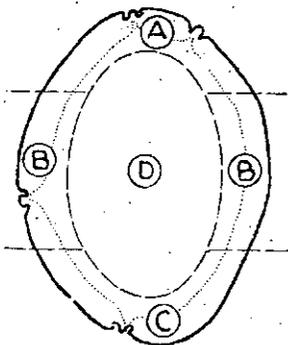


Abb. 1. Schema der Knollensektoren

Zur Herstellung des Chromatogramms wurde der  $\beta$ -globulinfreie Saft verwendet. 5 ccm des filtrierten und auf  $1/5$  eingedichteten Saftes wurden auf Sch. & Sch. Papier Nr. 2043b aufgetragen (7), wobei die Originalbogen in 4 gleich grosse Teile geschnitten und ein jeder Teil in 8 gleiche Streifen geteilt wurde. Zur Erhöhung des Trenneffektes wurden die einzelnen Streifen bei der Startstelle mit einer »Taille« versehen (5, 11). Die Substanzen wurden in einem Solvens aus *n*-Butanol-Essigsäure-Wasser (40:10:50) laufen gelassen (2) und nach Besprühen mit 0,2% igem Butanol-Ninhydrin bei  $90^{\circ}$  C entwickelt. Zur Kontrolle wurden unter den gleichen Bedingungen einerseits reine Mercksche Aminosäuren und andererseits mit reinen Aminosäuren angereicherter Kartoffelsaft aufgetragen um festzustellen, ob eine wesentliche Modifikation der Rf-Werte zustandekommt. Bei diesen qualitativen und teils quantitativen Untersuchungen wurde unberücksichtigt gelassen, ob in dem Saft eventuell störende Substanzen vorhanden waren.<sup>1</sup>

Die qualitative Bestimmung geschah durch Vergleich der Rf-Werte einerseits von mit Kupfernitrats konservierten (8) Ninhydrinflecken mit den Standardlösungen, während zu den quantitativen Bestimmungen die Farbflecke eluiert und dies Extinktionswerte im Pulfrich-Photometer unter Anwendung eines  $S_{300}$ -Filters abgelesen wurden (10).

### Versuchsergebnisse

Obwohl zur Identifizierung der einzelnen Aminosäuren die eindimensionalen Chromatogramme nicht ganz geeignet sind, weil in einem einzigen Trennungsgang nicht alle Komponenten klar voneinander getrennt werden und einzelne Streifenanteile verschiedene Aminosäuren gleichzeitig enthalten, geben sie auf die Frage, welche Aminosäuren in den jarowisierten Knollen, bzw. in den verschiedenen Sektionen derselben, in der grössten Menge vorhanden sind und welche davon den grössten Schwankungen unterworfen sind, sehr wertvolle Aufschlüsse.

Besondere Beachtung verdienen bei beiden Kartoffelsorten die am 15. Tage angefertigten Chromatogramme, wo nämlich die Gesamtaminosäuren maximale Werte erreichten (12) und die »Strömung« der Aminosäuren zu den Keimen noch nicht oder erst kaum eingesetzt hatte. Interessant sind ferner die Chromatogramme des 29. Tages, wo auch der Gehalt der Kontrollknollen und der Keime an freien Aminosäuren untersucht wurde und so eine Möglichkeit

<sup>1</sup> Zu den exakten quantitativen Untersuchungen (über deren Ergebnisse an anderer Stelle berichtet wird) haben wir — ausgehend von der Trockensubstanz — mit Aethanol extrahierte und sorgfältig gereinigte Substanzen zweidimensional laufen lassen.

Aminosäuren	Rf	Sektor „A“			Sektor „B“			Sektor „C“			Sektor „D“			die Keime		
		15. Tage		Kon- troll	29. Tage											
		+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+
Isoleucin	0,76	++	+	+	++	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	+
Leucin	0,70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenylalanin- Methionin	0,60	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	+++	++	+++	++
Triptophan- Valin- Aminobuttersäure	0,52 0,50	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Tyrosin	0,42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Prolin	0,40	++++	+++	+++	++++	+++	+++	++++	+++	+++	++++	+++	++++	+++	++++	+++
Alanin	0,30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutaminsäure	0,26	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	++	+	++	+
Glutathion	0,22	++	+++	++	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	+++	++	+++	++
Asparaginsäure	0,20	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	+++	++
Arginin Histidin Asparagin	0,19 0,16	++++	+++	+++	++++	+++	+++	++++	+++	+++	++++	+++	++++	+++	++++	+++
Lysin	0,14	++	+	++	++	+	++	++	+	++	++	+	++	+	++	+
Cystin Cystein	0,08	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	++	+

Table 1. Die relative Verteilung der freien Aminosäuren in den jarowisierten Knollen der Kiszardaer Rosen-Sorte am 15. und 29. Tage der Austreibung sowie in den Kontrollknollen und Keimen.

Aminosäuren	Rf	Sektor „A“			Sektor „B“			Sektor „C“			Sektor „D“			die Keime	
		15. Tage	29. Tage	Kontroll	29. Tage										
Isoleucin	0,76	+	+	+	+	+	++	+	+	++	+	+	+++	+	++
Leucin	0,70	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenylalanin-Methionin	0,60	++	+	+++	++	+	++	-	-	+++	+++	+++	+++	+	++
Tryptophan-Valin	0,52	++++	+++	+	++++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	+++
Aminobuttersäure	0,50														
Tyrosin	0,42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Prolin	0,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alanin	0,30	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	++	+	++	++
Glutaminsäure	0,26	+	+	+	+++	+	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	+
Glutathion	0,22	+++	+	+++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Asparaginsav	0,20	+++	+	++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+	+
Arginin	0,19	++++	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++++
Histidin	0,16														
Asparagin															
Lysin	0,14	++	+	++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	+	+++	+	+
Cystein	0,08	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Tabella 2. Die relative Verteilung der freien Aminosäuren in den jarvisierten Knollen der *Ella*-Sorte am 15. und 29. Tage der Austreibung sowie in den Kontrollknollen und Keimen.

zum Vergleich bzw. zur Parallelbeobachtung gegeben war. Sowohl bei den *Kisvårdaer Rosen-* als auch bei den *Ella*-Knollen konnten in der Regel 12 voneinander deutlich abgegrenzte Flecke erhalten werden, die Teils von je einer, und teils von mehreren Aminosäuren mit identischen oder annähernd gleichen Rf-Werten herrühren.

In den Knollen beider Kartoffelsorten und in jedem Sektor derselben konnten wir die folgenden Aminosäuren bzw. Aminogruppen isolieren: *Leucin*, *Isoleucin*, *Tyrosin*, *Prolin*, *Glutathion*, *Asparaginsäure*, *Lysin*, *Phenylalanin-Methionin*, *Tryptophan-Valin-Aminobuttersäure*, *Alanin-Threonin*, *Glutaminsäure-Glykokoll*, *Arginin-Asparagin-Histidin-* und schliesslich *Cystein-Cystin-*Gruppen. Die relativen Mengen und Rf-Werte der in den A-, B-, C- und D-Sektoren der untersuchten Kartoffelsorten bzw. im Falle der Kontrollen und der Keime ermittelten Aminosäuren sind in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

Die Zahl der Kreuze (+) stellt die relative Menge der einzelnen Aminosäuren dar, die auf Grund der Ausdehnung und intensität der Flecke schätzungsweise festgestellt wurde. Aus den Tabelle geht hervor, dass sämtliche identifizierten Aminosäuren in der Knollen, und in jedem Sektor der Knollen beider Kartoffelsorten vorkommen, ihre Menge aber — wenn auch nicht im Falle aller Aminosäuren — im Laufe der Jarowisation (Lichtkeimung) mehr oder minder grossen Schwankungen unterliegt. Intensiv treten in jedem Falle die Flecken der *Tryptophan-Valin*, der »Über-Alanin« gelegenen *X-Aminosäure* (wahrscheinlich *Prolin*), des *Asparagin-Arginin-Histidins*, der *Glutaminsäure*, des *Glutathions* und der *Asparaginsäure* hervor. Am 15. Tage der Jarowisierung sind sämtliche Aminosäuren in den Knollen in grösserer Menge nachweisbar als am 29. Tage oder als in den Kontrollen, was ebenfalls darauf hinweist, dass ein bedeutendes Ausströmen der freien Aminosäuren in die in Entwicklung begriffenen Keime stattfindet.

Zur Veranschaulichung der Trennung und Position der Aminosäureflecken füge ich das Chromatogramm der A-, B-, C- und D-Sektoren der *Ella*-Sorte bei (Abb. 2).

Die durch Eluierung und photometrische Bestimmung erhaltenen Extinktionswerte geben ein weit genaueres Bild über die Quantitätsverhältnisse als die Schätzung. Alle diejenigen Aminosäuren, deren Menge in den einzelnen Sektionen während der Keimung in bedeutenderem Masse wechselte — und die somit wahrscheinlich eine wichtige physiologische Rolle spielen, sind auch in besonderen Diagrammen dargestellt. (Abb. 3.)

In den Knollen der *Kisvårdaer Rosen*-Sorte ist der gemeinsame Fleck der *Tryptophan-Valin-Aminobuttersäure* am grössten. Nach Abb. 3 nimmt die Menge der genannten Aminosäuren in der Reihenfolge der A-, B-, C- und D-Sektoren am 15. Tage des Versuches zu. Am 29. Tage ist die Menge der gleichen Aminosäuren im A-Sektor einigermaßen verringert, während sie im B-Sektor unverändert bleibt und in den Sektoren C und D etwa auf  $\frac{1}{4}$  des Ausgangswertes herabgesetzt ist. Die *Glutaminsäure-Glykokoll*-Gruppe erreicht am 15. Tage in allen 4 Sektionen annähernd gleiche Werte, am 29. Tage ist in den Sektoren A, B, und C ein mässiger Rückgang und in D eine Erhöhung auf etwa das Doppelte zu beobachten. Der Gehalt der Keime an *Tryptophan-Valin-Aminobuttersäure* bzw. *Glutaminsäure-Glykokoll* stimmt im grossen und ganzen mit dem Verlust der Knollen an diesen Aminosäurenarten überein.

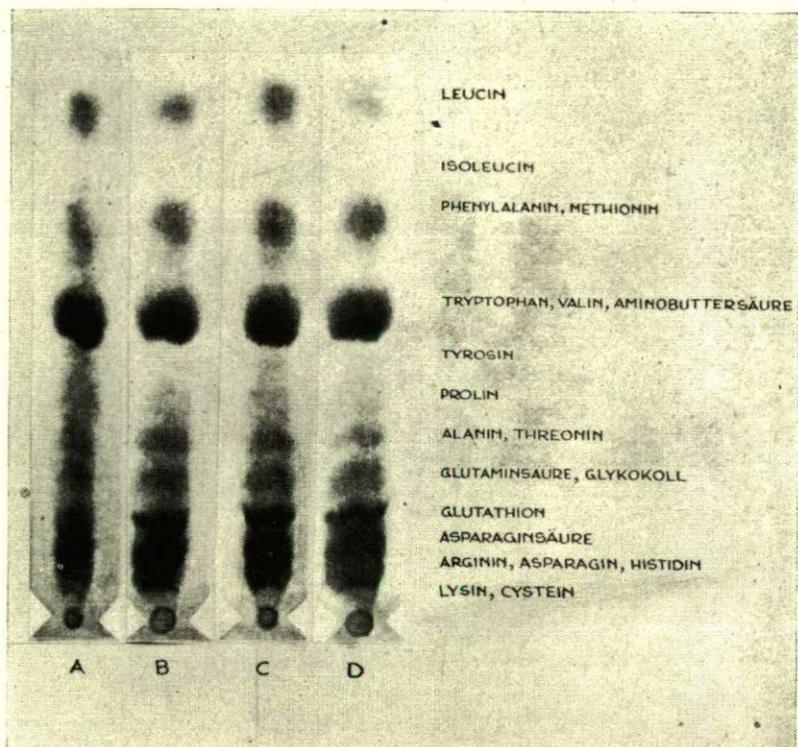


Abbildung 2. Chromatogramm aus den Knollen der *Ella*-Sorte am 15. Tage der Jarowisation. A, B, C und D sind die untersuchten Sektoren (Siehe Abb. 1).

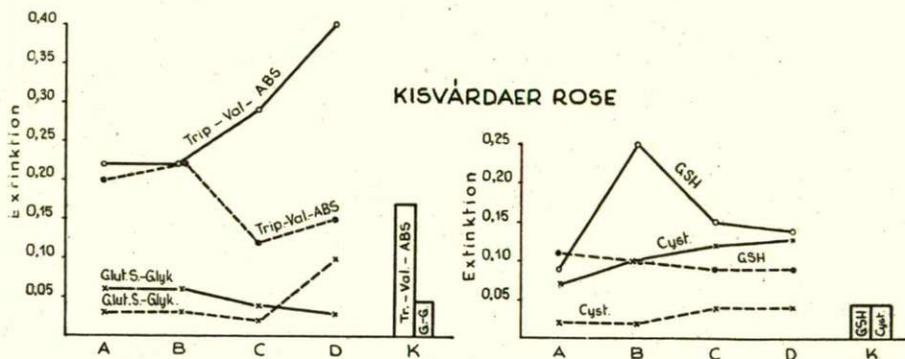


Abbildung 3. Quantitative Veränderung einiger Aminosäuren in den jarowisierten Knollen und Keimen der *Kisvárdai Rose*-Sorte am 15. und 29. Tage der Behandlung. A, B, C und D sind die untersuchten Sektoren.  
 — am 15. Tage der Behandlung.  
 - - - am 29. Tage der Behandlung.

Die *Glutathion*menge ist am 15. Untersuchungstage im Sektor B am grössten, und am 29. Tage geht ihre Menge ebenfalls im B-Sektor bedeutend zurück. Der *Cysteingehalt* steigt der Reihe nach in den Sektoren A, B, C und D sowohl am 15. als auch am 29. Tage, beträgt aber im letzteren Falle in jeder Sektion nur etwa die Hälfte. Der *Glutathion-* bzw. *Cysteingehalt* der Keime scheint dem Verlust der Knollen an eben diesen Aminosäurenarten proportional zu sein.

In den Knollen der *Ella*-Sorte (Abb. 4) kommt die Tendenz, dass die Menge einzelner Aminosäuren entsprechend dem Wachstumsausmasse der Keime abnimmt, ebenfalls zum Ausdruck nur ist hier Verteilung in den einzelnen Sek-

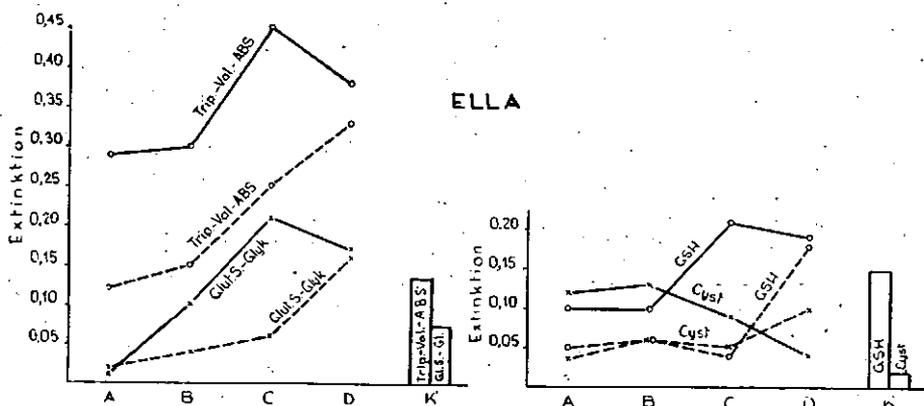


Abbildung 4. Quantitative Veränderung einiger Aminosäuren in den jarowisierten Knollen und Keimen der *Ella*-Sorte am 15. und 29. Tage der Behandlung. Bezeichnung die gleiche wie in Abb. 3.

tionen eine andere als im Falle der *Kisvárdáer* Rosen. Die Abnahme der *Tryptophan-Valin-Aminobuttersäure* ist im D-Sektor am geringsten und im C-Sektor am grössten. Aehnlich gestalten sich die Verhältnisse auch im Falle des *Glutaminsäure-Glykokolls*. Von ähnlichem Charakter ist auch die Veränderung des *Glutathion-* und *Cysteingehaltes*. Der Aminosäuregehalt der Keime zeigt eine deutliche Anlehnung an die Schwankungen des Aminosäurespiegels in den Knollen.

#### Auswertung und Zusammenfassung der Ergebnisse.

Ein Vergleich unserer Ergebnisse über den Gehalt der Knollen der *Kisvárdáer* und *Ella*-Sorten an freien Aminosäuren mit den diesbezüglichen Angaben von DENT, STEPKA und STEWARD (3) ergibt, dass — mit Ausnahme des *Glutamins* und *Cytrullins* — sämtliche Aminosäuren nachgewiesen wurden. Natürlich wollen wir das Vorkommen dieser beiden Aminosäuren nicht bezweifeln, einerseits, weil wir nur mit eindimensionalen Chromatogrammen gearbeitet haben und andererseits, weil ihre Menge möglicherweise auch unterhalb der nachweisbaren Grenze liegen kann. Unsere Beobachtungen werden durch die Ergebnisse von IRION und FISCHNICH (7) an mit »Rindite« behandelten Knollen

bestätigt. Allerdings haben diese Autoren ihre Untersuchungen nicht gesondert auf die einzelnen — auf Grund der bipolaren Struktur der Knolle aufgestellten — Sektoren ausgedehnt, sondern nur globale Messungen vorgenommen. Betreffs der Menge der einzelnen Aminosäuren bestehen aber gewisse Abweichungen zwischen ihren und unseren Beobachtungen. So haben z. B. auch IRION und FISCHNICH die auffallend starken Flecke der *Tryptophan-Valin-Aminosbuttersäure* — welche in beiden Knollensorten und in allen Sektoren in Erscheinung treten — und die im Laufe der Jarowisation steigende Tendenz erkennen lassen — wahrgenommen und sie vornehmlich auf die grössere Menge des Valins zurück geführt. Unsere Untersuchungen bzgl. des Gehaltes an freiem und gebundenem *Tryptophan* in den jarowisierten oder mit »Rindite« behandelten Knollen (13) weisen demnach darauf hin, dass die Intensität der Flecke in erster Linie und hauptsächlich auf den *Tryptophangehalt* zurückgeführt werden muss. Eine genauere Antwort auf diese Frage werden wir übrigens demnächst bei der Auswertung unserer zweidimensionalen Chromatogramme geben können. Der hohe *Tryptophangehalt*, sowie seine Zunahme erscheint übrigens auch in Anbetracht des steigendem Bedarfs der schnell wachsenden Keime an Wuchsstoffen logisch. SATAROWA (14) stellte in frisch gerodeten Knollen einiger Kartoffelsorten einen Anstieg der freien Aminosäuren nur in der Nähe der Sprosse fest.

Von den drei Grund-Aminosäuren sind die *Glutaminsäure* und *Asparaginsäure* (welche unmittelbar aus den  $\alpha$ -Ketosäuren des Krebschen Cyklus gebildet werden können) stets in viel grösserer Menge zugegen, als das  $\alpha$ -Alanin (15). Die gelben Flecken des *Arginins* und *Asparagins* und ferner des *Prolins* (?) weisen im Laufe der Jarowisation nur unbedeutende Schwankungen auf. Die quantitative Bestimmung des *Glutathions* war besonders durch den Umstand weitgehend gestört und erschwert, dass gleichzeitig mit dem 0,12-Wert stets ein zweiter Fleck in Erscheinung trat, der zusammenfiel mit dem *Lysin-Cystein*-fleck. Es darf auch der Umstand nicht ausser acht gelassen werden, dass von dem freien, an Eiweiss nicht gebundenen *Glutathion* in wässriger Lösung mehrere Strukturformen (H-Brücken, offene Ketten-, Hydroxy-Pyrrolidon, Hydroxy-Thiazolydin-Thyazolin- usw. Formen) bekannt sind, wodurch seine vielseitige Rolle verständlich wird. Wir wissen, dass das *Glutathion* gewisse Proteine zu reduzieren und dadurch zu aktivieren imstande ist (6). Nachdem die Reduziertheit — und damit der Grad des Reduktionsvermögens des GSH vom Redoxpotential des Gewebes abhängig ist, spielt es auch in den Prozessen der Zellatmung eine bedeutende Rolle (1). Die Veränderung des *Glutaminsäure*-, *Cystein*- und *Glykokoll*niveaus scheint mit der quantitativen Zunahme des *Glutathione* in Zusammenhang zu bringen zu sein.

### Zusammenfassung

1. Mit Hilfe papierchromatographische Untersuchungen wurde der Gehalt der Knollen der *Kisvárdaer* und *Ella*-Kartoffelsorten an freien Aminosäuren in den einzelnen Phasen der Jarowisation im apikalen, im Gürtel-, im basalen und im »Herz«-teil der Knollen geprüft. Trotz der verschiedenen Knollensorten und ungeachtet der abweichenden Austreibungsfähigkeit — infolge der bipolaren Struktur der Knollen — zeigte die Zusammensetzung der Aminosäuren

keine qualitativen Unterschiede.

2. An Hand von eindimensionalen Chromatogrammen konnten die abgeordneten Flecke von *Leucin*, *Isoleucin*, *Tyrosin*, *Prolin*, *Glutathion* und *Asparaginsäure*, sowie auch die Flecken des *Phenylalanin-Methionin*-, des *Tryptophan-Valin-Aminobuttersäure*-, des *Alanin-Threonin*-, des *Glutaminsäure-Glykokoll*-, des *Arginin-Asparagin-Histidin*- und schliesslich des *Lysin*- und *Cystein*komplexes nachgewiesen werden.

3. Mit fortschreitender Jarowisation ist — im Verhältnis zu den Kontrollknollen — eine quantitative Veränderung der freien Aminosäuren zu beobachten, welche nicht nur in der Nähe der Sprosse, sondern im ganzen Querschnitt der Knolle mit annähernd gleicher Intensität vor sich geht.

4. Für den freien Aminosäurenstoffwechsel der Knollen ist in erster Linie die dominierende Menge der *Tryptophan-Valin-Aminobuttersäure*-, des *Glutaminsäure-Glutathion-Asparaginsäure*- sowie des *Arginin-Asparagin-Histidin*-komplexe charakteristisch.

5. Die Menge der verschiedenen Aminosäuren ist während der Keimung in den einzelnen Sektoren verändert.

#### Schrifttum

- (1) Barron, E. S. G.: Adv. Enzymol, **11**, 201 (1951).
- (2) Cramer, Fr.: Papierchromatographie. Weinheim, (1954).
- (3) Dent, C. E.—W. Stepka and F. C. Steward: Nature (London) **160**, 682 (1947).
- (4) Fejér, D.: A gyökerek élettani tevékenysége, különös tekintettel a kénartalmú származékokra. Diss. Budapest 1957.
- (5) Ganguli, N. C.: Naturwiss. **41**, 282 (1954).
- (6) Hopkins, F. G.: Biochem. J. **19**, 787 (1925).
- (7) Irion, W. und O. Fischnich: Zeitschr. f. Pfl. ernährung, **59**, 248 (1952).
- (8) Kaverau, E. and T. Wieland: Nature (Lond.) **168**, 77 (1951).
- (9) Keser, M.: Planta, **45**, 94—105 (1955).
- (10) Madan, Lal, Ch.: Planta, **47**, 53 (1956).
- (11) Matthias, W.: Naturwiss. **41**, 17 (1954).
- (12) Szalai, I.: Acta Biol. Szeged, **3**, 33 (1957).
- (13) Szalai, I.: Acta Biol. Szeged, **3**, 51 (1957).
- (14) Сапарова, Н. А.: К вопросу о содержании аминокислот в свежубраанных клубнях картофеля при нарушении покоя. Физiol. Раст. Москва, **2**, 529—532 (1955).
- (15) Virtanen, A. I.: Angew. Chem. **67**, 381 (1955).