

## A talaj szervesanyagában levő aminosavak nitrogéntartalmának és átalakulásának vizsgálata

DINCSEV, D., IKONOMOVA, E. és ISZTATKOV, S.

*Puskarov Talajtani Intézet, Szófia*

A talajban levő szerves nitrogéntartalmú vegyületek aminosav összetételének vizsgálata nagy jelentőségű a nitrogén mozgékonyságának és a növények számára való hozzáférhetőségének szempontjából. Az utóbbi időkben megjelent ilyen vonatkozású munkákban rendszerint csak minőségileg vizsgálták a talajban levő szerves nitrogén aminosav összetételét. Kevés a vizsgálati adat a talaj szerves nitrogénjében található aminosavak mennyiségére ill. az egyes aminosavakban tartalmazott nitrogén mennyiségével kapcsolatban [2, 3].

Jelen dolgozatban adatokat közlünk a talaj aminosavaiban tartalmazott nitrogén mennyiségéről és átalakulásáról, amelyeket a preparatív kromatográftechnika és a nitrogén stabil izotópjának ( $N^{15}$ ) alkalmazása révén nyertünk.

### Anyag és módszer

Két talajt vettünk vizsgálat alá: tipikus csernozjom talajt — pH (KCl) = 6,0, össznitrogéntartalom 0,160%; és szürke erdő talajt: pH (KCl) = 4,5, össznitrogéntartalom = 0,110%. A talaj aminosavaiban levő nitrogén átalakulásának nyomonkövetése céljából a fenti talajokat  $N^{15}$ \* — stabil izotóppal jelzett zabszalmával komposztáltuk 6 hónapon keresztül, 30° C hőmérsékleten, termosztátban. Ugyanilyen viszonyok között szalma nélkül is állítottunk be kezeléseket. A komposztálás alatt el nem bomlott szalmát 0,3 mm-es szitán való átmosással különítettük el a talajtól. Mind a kezeletlen, mind az el nem bomlott szalmát, valamint a talajt 6,0 n kénsavval hidrolizáltuk 24 órán át 120° C hőmérsékleten. Az aminosavak tisztítását, elkülönítését és azonosítását a kapott hidrolizátumokból TURCSIN [4, 5] módszere szerint végeztük. Az egyes aminosavak nitrogénjét a preparatív kromatográfia módszerével határoztuk meg, amely röviden az alábbiakból állott: az előkészített hidrolizátumokból 2—2 ml-t folytonos vonalat alkotva rávittük a WJ—15-ös kromatográf papírra. A kromatográf papírt az aminosavak elkülönítése után, az elkülönülés irányában meghatározott szektorokra vágtuk fel, amelyeket az egyes aminosavak azonosítása céljából feldolgoztunk. A kapott sablonok segítségével, előhívóval való kezelés nélkül, meghatároztuk az aminosavak helyét a kromatográf papíron. Az ilyen módszerrel megrajzolt szektorokat, amelyek az egyes

\* *Megjegyzés* : A felhasznált szalma össznitrogéntartalmát 13,5-szeresére dúsítottuk  $N^{15}$ -tel, amelyet a zab tenyészvényben végzett termesztésnél úgy értünk el, hogy 0,450 g nitrogént adagoltunk az edénybe 20,5-szeresen  $N^{15}$ -tel dúsított ammónium-szulfát alakjában.

aminosavakat, vagy aminosav csoportokat tartalmazzák, kivágtuk, az aminosavakat kivontuk belőlük, majd a bennük levő nitrogént Kjeldahl félmikromódszerével meghatároztuk.

Kjeldahl módszerével határoztuk meg a talajból és szalmából készített hidrolizátumok nitrogéntartalmát is.

Az izotop vizsgálathoz szükséges gázalakú nitrogént az ammónia-nitrogén lúgos hipobromittal végzett oxidálása útján nyertük speciális szupervákuum berendezésben. A nitrogén izotóp összetételének mérését FAUST [1] módszere szerint végeztük, a nitrogéngáz fénylésig való gerjesztése útján nagyfrekvenciájú elektromágneses térben. Az emissziós spektrumokat kvarcspektrográffal fényképeztük le.

### A vizsgálat eredményei

Az 1. táblázatban feltüntettük a tipikus csernozjom- és a szürke erdőtalajból, valamint ugyanezekből a talajokból, 6 hónapon keresztül szalmával történő komposztálás után készült hidrolizátumok aminosav összetételének és az egyes aminosavcsoportok által tartalmazott nitrogén mennyiségének adatait. Összehasonlítás céljából közöljük a komposztáláshoz felhasznált szalma fehérjéjének aminosav összetételéről és az aminosavak nitrogéntartalmáról kapott adatokat is.

1. táblázat

A talaj és a szalma hidrolizátumainak aminosav összetétele és az egyes aminosav frakciók nitrogéntartalma, a hidrolizátum össznitrogéntartalmának százalékában megadva

(1) Aminosavak	(2) Kezeletlen szalma	(3) Tipikus csernozjom	(4) Szürke erdőtalaj	(5) Tipikus csernozjom + szalma	(6) Szürke erdőtalaj + szalma
1. Aszparaginsav + arginin .....	10,54	5,85	6,02	5,75	5,88
2. Glikokol + glutaminsav .....	20,58	9,72	10,03	10,18	10,00
3. Alanin + treonin ..	33,00	7,53	6,88	7,28	6,99
4. Prolin + tirozin ...	6,63	1,32	1,24	2,19	2,22
5. Valin .....	4,76	0,37	0,38	0,86	0,72
6. Fenilalanin + leicin .....	6,63	2,27	2,20	2,95	2,94
Összesen:	82,23	27,06	26,75	29,21	35,22

A táblázatban közölt adatok azt mutatják, hogy függetlenül az említett talajok kémiai összetételében mutatkozó elég nagy eltérésektől, a tipikus csernozjom és szürke erdőtalaj szerves nitrogénjében található egyes aminosavak százalékos aránya majdnem egyforma. E talajok szerves nitrogénjében levő egyes aminosavak százalékos részvétele nem változott a szalmával végzett 6 hónapos komposztálás után sem. Ez arra mutat, hogy a szalma fehérje-nitrogén-vegyületei, a viszonylag rövid idő alatt, a talajmikroorganizmusok hatására — a talajokra jellemző szerves nitrogén formába mennek át.

A táblázatból az is megállapítható, hogy nagy különbség van a szalma és a talaj hidrolizátumaiban levő aminosavak nitrogéntartalmában. A szalma-hidrolizátumban a nitrogén főrészt (82,23%) az aminosavak tartalmazzák. A kezeletlen és komposztált talajból készült hidrolizátumokban — az aminosavas nitrogén 26,75%-tól 35,22%-ig változik. Ez azt mutatja, hogy a talaj 6,0 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-vel hidrolizálható szerves nitrogéntartalma nem az aminosavakban, hanem más mozgékonyabb formában van jelen.

2. táblázat

Az egyes aminosav frakciók által tartalmazott nitrogén mennyisége a talaj és a szalma hidrolizátumokban talált összes aminosav-nitrogén %-ában

(1) Aminosavak	(2) Szalma	(3) Tipikus csernozjom — szalma	(4) Szürke erdőtalaj + szalma	(5) Tipikus csernozjom	(6) Szürke erdőtalaj
1. Aszparaginsav + + arginin . . . . .	12,84	19,72	20,45	21,62	22,50
2. Glikokol + gluta- minsav . . . . .	25,05	34,91	34,77	35,94	37,50
3. Alanin + treonin ..	40,17	24,85	24,32	27,84	25,71
4. Prolin + tirozin ...	8,07	7,50	7,73	4,86	4,64
5. Valin . . . . .	5,80	2,96	2,50	1,35	1,42
6. Fenilalanin + leicin.	8,07	10,06	10,23	8,38	8,21

A 2. táblázatban bemutatjuk a szalma és a talaj egyes aminosavaiban levő nitrogén viszonylagos megoszlását. Az adatok azt mutatják, hogy mind a kezeletlen, mind a szalmával komposztált talaj hidrolizátumaiban az egyes aminosavak aránya eléggé egytípusú. Azonkívül az egyes aminosavak aránya a talajból készült hidrolizátumban és a szalmából készült hidrolizátumban eléggé közel van egymáshoz. Különbség csak abban figyelhető meg, hogy míg a talajhidrolizátumok aminosavai között mennyiségi viszonylatban a glikokol és a glutaminsav, addig a szalma-hidrolizátumban az alanin és treonin dominál. TURCSIN is hasonló következtetésekre jutott vizsgálatai alapján [3].

A fenti adatok mellett tanúskodnak, hogy a talaj szervesanyagában levő aminosavak nitrogéntartalmában és arányában bizonyos stabilitás figyelhető meg. Vizsgálatainkban alkalmazott módszer, jelzett nitrogén felhasználásával, azonban azt mutatta, hogy az a nitrogén, amelyet a talaj szervesanyagában levő aminosavak tartalmaznak, függetlenül a csekély mennyiségi változásoktól, aránylag rövid idő alatt észrevehetően újraképződik.

A 3. táblázatban feltüntetjük a hat hónapig szalmával komposztált talajban végbemenő nitrogén újraképződésről kapott adatainkat. Ezek azt mutatják, hogy a talaj szalmával történő komposztálásánál annak a nitrogénnek kb. 20%-a, amelyet a talajban levő szervesanyag aminosavai tartalmaznak, újraképződik, azaz az eredeti nitrogén 20%-a más formába megy át és az elbomló szalmából kb. 20%-nyi nitrogén beépül a helyére.

Ez a tény bizonyítja a talaj szerves nitrogénjének jelentős mozgékony-ságát. Nagy a valószínűsége annak, hogy a talajban levő szervesanyag aminosavai a növények számára nitrogénforrásul szolgálnak.

## 3. táblázat

## A talaj szervesanyag összetételében levő aminosavak által tartalmazott nitrogén újraképződése

(1) Aminosavak	(2) N <sup>15</sup> -tel való feldúsulás mértéke		(3) A nitrogén újraképződésének %-a*	
	Tipikus csernozjom	Szürke erdőtalaj	Tipikus csernozjom	Szürke erdőtalaj
1. Aszparaginsav + + arginin . . . . .	2,26	2,34	10,0	10,0
2. Glikokol + glutaminsav . . . . .	3,26	3,32	18,0	18,5
3. Alanin + treonin . .	4,00	4,16	24,0	25,3
4. Prolin + tirozin . . .	3,18	3,20	17,4	17,4
5. Valin . . . . .	3,44	3,31	19,5	18,5
6. Fenilalanin + leicin	3,63	3,67	21,0	21,0

\* A nitrogén-újraképződés %-át TURCSIN [4] által javasolt képlet segítségével számoltuk ki:  $\frac{A_1 - 1}{A - 1} \cdot 100$ , ahol  $A$  = a kiindulási nitrogénforrás N<sup>15</sup>-tel való feldúsulásának mértéke (jelen esetben: N<sup>15</sup>-tel 13,5-szeresen feldúsított zabszalma).

$A_1$  — a vizsgált nitrogénvegyület N<sup>15</sup>-tel való feldúsulásának mértéke, amelyet kísérleti úton állapítottunk meg.

1 — N<sup>14</sup>:N<sup>15</sup> izotópok aránya a természetben, amelyet feltételelesen egynek vettünk.

## Összefoglalás

Megvizsgáltuk a talaj szervesanyagában előforduló aminosavak nitrogéntartalmát és annak átalakulását.

Megállapítottuk, hogy a különböző talajok szerves nitrogénjét képező aminosavak nitrogéntartalmában nagy a hasonlóság.

Adatokat kaptunk a talaj szervesanyagában levő aminosavak nitrogéntartalmának számottevő újraképződésére vonatkozóan is.

Érkezett: 1964. május 6.

## Irodalom

- [1] FAUST, H.: Zur spektroskopischen N<sup>15</sup> Bestimmung unter Anwendung eines Stufenfilters. Z. Anal. Chem. **175**, 9—18. 1960.
- [2] SOWOLEN, J. J.: Estimation of amino acids in soil hydrolysates by the Moore and Stein method. Soil Sci., **80**, 181—188. 1955.
- [3] TURCSIN, F. V.: Rol' mineral'nogo i biologiceszkogo azota v zemledelii SSSR. Pocsvovedenie. (6) 15—29. 1956.
- [4] TURCSIN, F. V. et al.: Iszszledovanie azotnogo obmena rasztenij sz primeneniem izotopa azota N<sup>15</sup>. Mecsennüe atomü v iszszledovaniah pitaniija rasztenij i primeneniija udobrenij. Izd. AN SSSR. Moszkva. 1955.
- [5] TURCSIN, F. V.: Hromatograficeszkij metod opredelenija aminokiszlotnogo szosztava azotnüh organiceszküh vecsesztv pocsvü. Agrohimescszkie metodü iszszledovaniija pocsv. Izd. AN SSSR. Moszkva. 1960.

## Study of Nitrogen Contents and Transformation of Amino Acids in the Organic Matter of the Soil

D. DINCHEV, E. IKONOMOVA and S. ISTATKOV

„Pushkaroff“ Institute of Soil Science, Sofia

### Summary

Nitrogen content of amino acids in the organic matter of the soil and its transformation was studied.

It has been established that in the organic matter of nitrogen contents in various soils there is a great similarity as to amino acids.

Data were obtained also concerning the considerable reproduction of the nitrogen content of amino acids in the organic matter of the soil.

*Table 1.* Amino acid composition of the hydrolysates of soil and straw and nitro- gen contents of the particular amino acid fractions in per cent of the total nitrogen contents of the hydrolysate. (1) Amino acids. (2) Untreated straw. (3) Typical chernozem. (4) Gray forest soil. (5) Typical chernozem + straw. (6) Gray forest soil + straw.

*Table 2.* Amount of nitrogen in the particular amino acid fractions, in per cent of total amino acid nitrogen found in soil and straw hydrolysates. (1) Amino acids. (2) Straw. (3) Typical chernozem + straw. (4) Gray forest soil + straw. (5) Typical chernozem. (6) Gray forest soil.

*Table 3.* Reproduction of nitrogen included in the amino acids in the organic matter of the soil. (1) Amino acids. (2) The measure of enrichment with  $N^{15}$  in typical chernozem and gray forest soil. (3) Per cent of reproduction of nitrogen in the two former soils. This percentage was calculated with the formula suggested by Turchin. (4).

## Die Prüfung des Stickstoffgehaltes der im organischen Stoff des Bodens befindlichen Aminosäuren und deren Verwandlung

D. DINTSCHEW, E. IKONOMOVA und S. ISTATKOW

„Pushkaroff“ Institut für Bodenkunde, Sofia

### Zusammenfassung

Der Stickstoffgehalt der im organischen Stoff des Bodens vorkommenden Amino- säuren und deren Verwandlung wurden untersucht und festgestellt, dass betreffs der Aminosäuren der stickstoffhaltigen organischen Substanz der verschiedenen Böden eine grosse Ähnlichkeit besteht.

Wir erhielten auch Angaben über eine namhafte Neubildung des Stickstoff- gehaltes der im organischen Stoff des Bodens befindlichen Aminosäuren.

*Tab. 1.* Die Aminosäuren-Zusammensetzung der Hydrolysate des Bodens und des Strohes sowie der Stickstoffgehalt der einzelnen Aminosäure-Fractionen in Prozenten des Gesamtstickstoffs des Hydrolysates angegeben. (1) Aminosäuren. (2) Unbehandeltes Stroh. (3) Typisches Tschernosem. (4) Grauer Waldboden. (5) Typisches Tschernosem + Stroh. (6) Grauer Waldboden + Stroh.

*Tab. 2.* Die Menge des in den einzelnen Aminosäure-Fractionen enthaltenen Stickstoffs in Prozenten des in den Boden- und Stroh-Hydrolysaten befindlichen Gesamt- Aminosäure-Stickstoffs. (1) Aminosäuren. (2) Stroh. (3) Typisches Tschernosem + Stroh. (4) Grauer Waldboden + Stroh. (5) Typisches Tschernosem. (6) Grauer Waldboden.

*Tab. 3.* Die Neubildung des in den Aminosäuren des organischen Stoffes des Bodens enthaltenen Stickstoffes. (1) Aminosäuren. (2) Ausmass der Anreicherung mit  $N^{15}$  im typischen Tschernosem und grauen Waldboden. (3) Prozentuale Neubildung des Stickstoffes in den beiden vorigen Bodenarten. Die Prozente der Stickstoff-Neubildung wurden unter Anwendung der von TURTSCHIN [4] vorgeschlagenen Formel berechnet.

## Исследование содержания и превращения азота аминокислот почвенного органического вещества

Д. ДИНЧЕВ, Е. ИКОНОМОВА и С. ИСТАТКОВ

Почвенный Институт им. Пушкирова, София

### Резюме

Проводили исследования содержания и превращения азота, содержащегося в аминокислотах, входящих в состав почвенного органического вещества.

Установили большое сходство в содержании азота в аминокислотах, участвующих в построении органического азота, на различных почвах.

Получены данные о значительном обновлении азота, содержащегося в аминокислотах почвенного органического вещества.

*Табл. 1.* Аминокислотный состав и содержание азота в отдельных аминокислотах и в гидролизатах соломы и почвы, в%. (1) Аминокислоты. (2) Исходная солома. (3) Типичный чернозем. (4) Серая лесная почва. (5) Типичный чернозем + солома. (6) Серая лесная почва + солома.

*Табл. 2.* Процент азота, содержащегося в отдельных аминокислотах, от общего аминокислотного азота в гидролизатах соломы и почвы. (1) Аминокислоты. (2) Солома. (3) Типичный чернозем + солома. (4) Серая лесная почва + солома. (5) Типичный чернозем. (6) Серая лесная почва.

*Табл. 3.* Обновление азота, содержащегося в аминокислотах, входящих в состав почвенного органического вещества. (1) Аминокислоты. (2) Степень обогащения N<sup>15</sup> типичного чернозема и серой лесной почвы. (3) Процент обновления азота типичного чернозема и серой лесной почвы. Проценты обновления вычислены по формуле Турчина. (4).