

Freie Aminosäuren und verwandte Verbindungen in der Muskulatur der Chimäre sowie einiger Elasmobranchier und Evertebraten

Von Heinz Schaefer

Aus dem Institut für Meereskunde der Universität Kiel
und der Biologischen Anstalt Helgoland

Über freie Aminosäuren bei Elasmobranchiern liegen sehr wenige Angaben vor. Nach SHEWAN (1953), der ihr Auftreten bei *Raja batis*, *Acanthias vulgaris* und *Mustelus vulgaris* säulenchromatographisch analysierte, unterscheiden sich diese Elasmobranchier von den Gadiden qualitativ durch das Vorkommen von Betain und Sarcosin, quantitativ durch stärkeres Auftreten von Trimethylaminoxid, während bei den Gadiden die basischen Komponenten stärker nachweisbar sind. Der Katzenhai *Scyliorhinus canis* besitzt nach den papierchromatographischen Untersuchungen von RANKE (1959) größere Mengen von Arginin, Prolin und Asparaginsäure als die von ihm bearbeiteten Knochenfische.

Über *Chimaera* fehlen entsprechende Analysen.

Über einzelne freie Aminosäuren bzw. über deren Gesamtmuster bei marinen Evertebraten wurde von mehreren Autoren berichtet (vgl. SIMPSON et al. 1959). Eine Zusammenstellung der Literatur muß einer späteren Übersicht überlassen bleiben.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich ebenfalls mit dem Muster der freien Aminosäuren in der Muskulatur mariner Tiere, von denen in dieser Hinsicht zum größten Teil noch nichts bekannt ist. Die Untersuchungen sollen dazu dienen, weitere chemische Charakteristika der systematisch so unterschiedlichen Arten herauszustellen.

Material und Methodik

Die Muskulatur der untersuchten Tiere wurde gleich nach dem Fang an Bord von FFS „Anton Dohrn“ zu alkoholischen Extrakten verarbeitet. Die Untersuchungsmethoden, einige Reaktionen der noch nicht identifizierten Sub-

Deutscher Beitrag zum Polarfrontprogramm des Internationalen Geophysikalischen Jahres 1958.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich ergebenst für die Gewährung eines Stipendiums und einer Sachbeihilfe.

stanzen und die papierchromatographische Lage der meisten dieser Verbindungen wurden in einer früheren Arbeit beschrieben (SCHAEFER 1962). Die Position der übrigen unbekanntenen Substanzen auf den Papierchromatogrammen (Lösungsmittel Butanol : Eisessig : Wasser 4 : 1 : 1 und Pyridin : Amylalkohol : Wasser 7,5 : 7 : 6) ist wie folgt: „3“ unter Tryptophan auf der Höhe von Glycin; „9“ zwischen α -Aminobuttersäure und Valin; „15“ unter Valin auf der Höhe von Threonin.

Folgende Muskelpartien wurden untersucht:

Elasmobranchier	Rumpfmuskulatur
<i>Tellina, Neptunia</i>	Fußmuskulatur
<i>andalus</i>	Abdominalmuskulatur
<i>Gonatus</i>	Ringmuskel und Tentakel

Von den Muskeln einiger Evertrebraten wurde kein Frischgewicht bestimmt, die darauf zu beziehenden Stickstoffwerte entfallen daher.

Ergebnisse

Die Positionen der Fangplätze und hydrographische Angaben sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Der Gehalt an Gesamtstickstoff und Reststickstoff in den alkoholischen Muskelextrakten der Elasmobranchier und der Chimäre (Tabelle 2) ist etwa 3—4mal so hoch wie der der Knochenfische (vgl. SCHAEFER 1962). Der Gehalt an Aminostickstoff liegt mit Ausnahme des gefleckten Rochens nicht sehr viel höher als der von Knochenfischen mit hohen Aminostickstoff-Konzentrationen. Das Verhältnis Aminostickstoff zu Gesamtstickstoff entspricht dem der meisten Knochenfische. Der Reststickstoff muß also durch andere stickstoffhaltige Substanzen verursacht sein, die unter den vorliegenden Arbeitsbedingungen nicht die van-Slyke-Reaktion ergeben. Vermutlich spielt hierbei der Harnstoff, eventuell auch Betain und Trimethylaminoxid eine große Rolle. Bereits STÄDELER und FRERICHS (1858) fanden sehr große Harnstoffmengen in der Elasmobranchiermuskulatur.

Tabelle 1
Hydrographische Angaben zu den Fangstationen

Station	Position	Datum	Fangtiefe	Temperatur	Salzgehalt
2233	Kanal 50°25' N 0°12' W	1. 3.	49—56 m	8,48	35,07 ‰
2234	Kanal 49°58' N 04°02' W	2. 3.	72	9,62	35,10
2301	südl. Island 63°05' N 23°57' W	28. 3.	430—460	6,45	35,19
2477	Nordsee 54°58' N 05°40' O	6. 8.	41		
2478	Nordsee 57°42' N 0°12' W	7. 8.	95		
2620	Cap Farvel (Südgrönland) 59°41' N 44°12' W	15. 9.	125—135	2,65— 3,65	33,73— 33,51

Soweit gleichzeitig hydrographische Messungen gemacht wurden, besorgte mir Herr Prof. KALLE, Hamburg, liebenswürdigerweise die Angaben über Temperatur und Salzgehalt. Da von 2620 keine Angaben vorliegen, wurden die Meßergebnisse von zwei sehr benachbarten Stationen mit entsprechender Tiefe eingetragen.

branchiermuskulatur, dementsprechend zeigten auch die Harnstoffflecken auf den Papierchromatogrammen der Elasmobranchier sehr große Ausmaße. SHEWAN (1953) beobachtete erhebliche Mengen von Betain bei den von ihm untersuchten Knorpelfischen. Konzentrationsangaben liegen nicht vor.

Die Stickstoffmengen beim Katzenhai liegen höher als die von RANKE (1959) beschriebenen Werte, doch kann dies auf jahreszeitliche oder standortbedingte Unterschiede zurückzuführen sein. Dasselbe gilt für β -Alanin.

Auf Grund der papierchromatographischen Analysen (Tabellen 3, 4) unterscheiden sich die Elasmobranchier von den meisten Knochenfischen durch ein stärkeres Vorkommen von Lysin, β -Alanin und Harnstoff und durch das

Tabelle 2
Stickstoffgehalt in den Muskelextrakten

Art	Station	mg GN in 100 g F	mg AN in 100 g F	AN%/GN	Rest-N
Chimäre, <i>Chimaera monstrosa</i> L.	2301	775	72	9,3	703
Nagelrochen, <i>Raja clavata</i> L.	2233	916	161	17,6	755
	2478	1034	138	12,6	896
	2620	831	234	27,7	597
	2234	1240	477	36,3	763
Gefleckter Rochen, <i>Raja montagui</i> Fowler	2234	1240	477	36,3	763
Glattrochen, <i>Raja batis</i> L.	2477	988	149	14,8	839
Katzenhai, <i>Scyliorhinus canicula</i> L.	2233	904	102	11,2	802
Dornhai, <i>Squalus acanthias</i> L.	2477	946	143	14,8	803
Hundshai, <i>Galeorhinus galeus</i> L.	2477	781	74	9,1	707
Tellina equina (Heterodonta)	2478				
Neptunia antiqua (Neogastropoda)	2523			32,9	
Pandalus borealis (Decapoda)	2526			51,6	
Gonatus Fabricii (Cephalopoda)	2558				
Ringmuskel.		509	130	25,2	379
Tentakel		438	147	32,7	271

Abkürzungen:

mg GN in 100 g F = mg Gesamtstickstoff in 100 g Frischgewicht

mg AN in 100 g F = mg Aminostickstoff in 100 g Frischgewicht

AN%/GN = Anteil des Aminostickstoffs in % am Gesamtstickstoff

Rest-N = Reststickstoff

Fehlen von Anserin (Carnosin). Weitere Unterschiede zwischen Knorpel- und Knochenfischen bestehen nach SHEWAN (1953) im stärkeren Auftreten von Trimethylaminoxid, Betain und Sarcosin bei ersteren. Bei einigen Elasmobranchiern wurde Arginin in starken Konzentrationen gefunden; der gleichlautende Befund von RANKE beim Katzenhai wird damit bestätigt. Die Muskulatur der meisten Knochenfische enthält dagegen nur wenig freies Arginin. Auffällig sind auch die meist hohen Konzentrationen von Prolin sowie das häufige Vorkommen der unbekanntenen Substanzen „13“ und „14“.

Die Rochen unterscheiden sich von den Haien und von der Chimäre durch höheren Gehalt an Aminostickstoff und meist extrem hohes Vorkommen von β -Alanin. Bei den Haien ist dagegen der Prolingehalt höher, es fehlen aber γ -Aminobuttersäure und einige unbekanntene Substanzen. Leucin/Isoleucin sind bei den Haien nur sehr schwach nachzuweisen.

Individuen derselben Art zeigen Unterschiede im Gehalt an einigen

Tabelle 4
Vorkommen von noch nicht identifizierten Verbindungen

Art	1	2	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	z
Chimäre									++						
Nagelrochen*		+		++					++			++			
**				++	+		+		++			++			
***		+		++				++	++			++	++		
Gefl. Rochen				++					++		++				
Glattrochen				++	+				++				++		
Katzenhai				++	+				++				++		
Dornhai		+		++					++	+		++			+
Hundshai				++					++						
Tellina	+			++	+										++
Neptunia		+		++	+	++	+	++				++			++
Pandalus				++				+				++	+		+
Gonatus				++								++			++
Ringmuskel	++	+		++				+				++			++
Tentakel	++	+		++				+				++			++

* = Station 2233 ** = Station 2478 *** = Station 2620

Die bei den Evertbraten angegebenen Größenordnungen beziehen sich auf Papierchromatogramme mit 0,1 mg Gesamtnitrostoff, die der übrigen Arten auf solche mit 0,06 g Frischgewicht.

Tabelle 3
Gehalte an freien Aminosäuren

Art	Station	Ser-Gly	Lys	Cys	Glu	Asp	His	Arg	Tau	Ala	β -Ala	Pro	Opro	Thr	Tyr	Meth	Phe	Val	α -Abs	β -Abs	γ -Abs	Leu	Ileu	TMO	Urea
Chimäre Nagelrochen	2301	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+			+++	+		+	++	+++	+++	
	2233	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	+	++	++			+++	++	+	++	++	+++	+++	
	2478	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+	+	++	++			+++	++	+	++	++	+++	+++	
	2620	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+	+	++	++			+++	++	+	+++	++	+++	+++	
Gefleckter Rochen Glattrochen Katzenhai Dornhai Hundshai	2234	+++	+++	+	+++	++	+	++	+++	+++	+++	++	+	+++	+			+++	+	+	+	++	+++	+++	
	2477	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+	+++	+			+++	+	+	+	++	+++	+++	
	2233	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+	+++	+			+++	+	+	+	++	+++	+++	
	2477	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	++	+	+++	+			+++	+	+	+	++	+++	+++	
Tellina equina Neptunia antiqua Pandalus borealis Gonatus Fabricii Ringmuskel Tentakel	2478	+++	+++		+++	+++	+	++	+++	+++	+	+		+++	+	+++		+++	+	+	+	++	+++	?	
	2523	+++	+++	+	+++	+++	+	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+		+++	+++	+++	+	++	+++	+++	
	2526	+++	+++		+++	+++	+	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+		+++	+++	+++	+	++	+++	+++	
	2558	+++	+	+	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	++	+	+++	+++	+++		+++	+++	+++	+	++	+++	+++	

Abkürzungen: Ser-Gly = Serin-Glycin, Lys = Lysin, Cys = Cystin/Cystein, Glu = Glutaminsäure, Asp = Asparaginsäure, His = Histidin, Arg = Arginin, Tau = Taurin, Ala = Alanin, β -Ala = β -Alanin, Pro = Prolin, Opro = Oxyprolin, Thr = Threonin, Tyr = Tyrosin, Meth = Methionin, Phe = Phenylalanin, Val = Valin, α -, β -, γ -Abs = Aminobuttersäuren, Leu = Leucin, Ileu = Isoleucin, TMO = Trimethylaminoxid, Urea = Harnstoff.

+ = schwache Konzentration
++ = mittlere Konzentration
+++ = starke Konzentration
++++ = sehr starke Konzentration

Aminosäuren, die möglicherweise standortbedingt sind. Ähnliche Beobachtungen konnten bei mehreren Fischarten gemacht werden (SCHAEFER 1962).

Die Chimäre nimmt auf Grund ihres niedrigen Gehaltes an Aminostickstoff und der meist geringen Mengen der einzelnen freien Aminosäuren eine Sonderstellung ein.

Die untersuchten Evertebraten weichen stark von den Fischen ab. Die meisten freien Aminosäuren kommen in starken Mengen vor. Auffallend ist, im Gegensatz zur Fischmuskulatur, der meist sehr niedrige Gehalt an Cystin/Cystein, Lysin und Histidin und das meist starke Vorkommen von Arginin, Prolin, Asparaginsäure und Methionin. Bei einigen anderen Evertebraten wurden gleichfalls große Mengen von Asparaginsäure und Prolin (RANKE) und Arginin (RANKE, SIMPSON et al.) gefunden. Die bei vielen Fischen vorhandenen unbekannt Substanzen „10“, „11“ und „12“ sind nicht nachweisbar, statt dessen treten weitere noch nicht identifizierte Flecken auf. RANKE fand auf den Papierchromatogrammen mehrerer Wirbelloser 7 (die identisch mit den Flecken „1“, „2“, „3“, „5“ und „z“ sein dürften, die beiden übrigen Verbindungen wurden von uns nicht gefunden) und MORRILL (1960) 17 Flecken von solchen noch nicht identifizierten Verbindungen. Das Vorkommen solcher Substanzen, die nicht identisch sind mit den bekannten Aminosäuren, dürfte für die qualitative Unterscheidung der Arten von größerem Nutzen sein als das der bekannten Eiweißbausteine.

Eine Diskussion der Ergebnisse, insbesondere der der Evertebraten, erscheint noch verfrüht zu sein. Es muß noch ein großes Artenmaterial untersucht werden, um feststellen zu können, inwieweit das Vorkommen der freien Aminosäuren systematisch verwertbar ist.

Physiologisch wird den niedermolekularen stickstoffhaltigen Substanzen eine große Bedeutung zugemessen. Harnstoff und Trimethylaminoxid dienen u. a. bei den Elasmobranchiern der Aufrechterhaltung des osmotischen Drucks (SMITH 1936). Auch den freien Aminosäuren soll bei den marinen Tieren eine osmoregulatorische Funktion zukommen (FLORKIN 1956, SIMPSON et al. 1959, ALLEN 1961, JEUNIAUX et al. 1961).

Zusammenfassung

Das Muster der freien Aminosäuren und verwandter Verbindungen in der Muskulatur von Chimaera sowie von Elasmobranchiern und marinen Evertebraten wurde papierchromatographisch untersucht.

Der Gehalt an Gesamtstickstoff und Reststickstoff ist bei den Elasmobranchiern bedeutend höher als bei den Knochenfischen.

Die Elasmobranchier unterscheiden sich von den Knochenfischen durch stärkeres Vorkommen einiger freier Aminosäuren und durch das Fehlen von Anserin.

Die Konzentration von β -Alanin ist bei den Rochen meist extrem hoch. Die Haie enthalten aber meist mehr freies Prolin, es fehlen ihnen γ -Aminobuttersäure und einige noch nicht identifizierte Verbindungen.

Die Muskulatur von Chimaera enthält wenig Aminostickstoff und nur geringe Mengen der meisten freien Aminosäuren.

Bei den untersuchten Evertebraten kommen sehr erhebliche Mengen an freien Aminosäuren vor. Cystin/Cystein, Lysin und Histidin sind jedoch nur schwach nachweisbar. Diese Evertebraten unterscheiden sich von den Fischen

durch stärkeres Auftreten von Arginin, Asparaginsäure, Methionin und Prolin und einiger unbekannter Verbindungen.

Summary

The pattern of the free amino acids and related compounds in the alcoholic extracts of the muscles of *Chimaera* and of some elasmobranchs and marine invertebrates has been studied by means of paper chromatography.

The concentrations of total nitrogen and residual nitrogen show greater predominance in the elasmobranchs than in teleosts.

The elasmobranchs differ from the teleosts by higher concentrations of some amino acids and by the absence of anserine.

The quantities of β -alanine are extremely large in most of the skates. The dogfishes contain more proline, but γ -amino butyric acid and some unidentified substances could not be detected.

Chimaera contains only small amounts of α -amino nitrogen and of most of the amino acids.

Very large quantities of many free amino acids are found in some marine invertebrates. They differ from the fishes by the predominance of arginine, aspartic acid, proline and methionine and of some yet unknown compounds.

Für die Anregung der Arbeit und freundliche Unterstützung danke ich Herrn Prof. Dr. Bramstedt, Hamburg. Die Vorarbeiten konnten dank der gütigen Erlaubnis von Herrn Prof. Dr. Kühnau im Physiologisch-Chemischen Institut, Hamburg, erfolgen. Die Arbeit wurde in der Fischereibiologischen Abteilung des Instituts für Meereskunde, Kiel, und in der Biologischen Anstalt Helgoland durchgeführt. Den Herren Institutsdirektoren danke ich herzlich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes. Besonderer Dank gebührt den Herren Prof. Dr. Bückmann, Prof. Dr. Kändler und Dr. Aurich für vielfache Unterstützung.

Literaturverzeichnis

- Allen, K., 1961: The effect of salinity on the amino acid concentration in *Rangia cuneata* (pelecypoda). *Biol. Bull.* **121**, 419—424.
- Florin, M., 1956: Vergleichende Betrachtung des stationären Zustandes der nicht-eiweißgebundenen Aminosäuren der Tiere. 6. Colloq. Ges. Physiol. Chemie, 62—94. Springer-Verlag, Berlin.
- Jeuniaux, Ch., Duchâteau-Bosson, Ch., and Florin, M., 1961: Free amino acids in the intracellular osmoregulation of euryhaline worms (Symposium). *Biochem. J.* **79**, 24p—25p.
- Morrill, J. B. Jr., 1960: Concerning the Free Amino Acids in the Hydroid Tubularia. *Experientia*, **16**, 441.
- Ranke, B., 1959: Über die nicht-eiweißgebundenen und eiweißgebundenen Aminosäurebestände von Fischen, Mollusken und Krebsen. *Arch. Fischereiwiss.* **10**, 117—159.
- Schaefer, H., 1962: Freie Aminosäuren und verwandte Verbindungen in der Rumpfmuskulatur frischgefangener mariner Knochenfische. *Helgol. Wiss. Meeresunters.* **8**, 257—275.
- Shewan, J. M., 1953: The nitrogenous extractives from fresh fish muscle. II. Comparison of several gadoid and elasmobranch species. *J. Sci. Food Agric.* **4**, 565—568.

- Simpson, J. W., Allen, K., and Awapara, J., 1959: Free amino acids in some aquatic invertebrates. *Biol. Bull.* **117**, 371—381.
- Smith, H. W., 1936: The retention and physiological role of urea in the Elasmobranchii. *Biol. Revs.* **11**, 49—82.
- Städeler, G., und Frérichs, F. Th., 1858: Über das Vorkommen von Harnstoff, Taurin und Scyllit in den Organen der Plagiostomen. *J. prakt. Chemie* **73**, 48—55.