Białka ziemniaka (*Solanum tuberosum*) rozpuszczalne w kwasie sulfosalicylowym

*Sulphosalicylic acid soluble proteins of the potato
(Solanum tuberosum)*

B. MORAWIECKA

Białko ziemniaka dobrze rozpuszczalne w roztworze chlorku sodowego zostało nazwane przez Osborne'a tuberyną (Osborne, Strause 1921). Tuberyna posiada oddziaływanie kwaśne i jest białkiem odpornym na denaturację cieplną przy podgrzaniu do temperatury 65° (Prokoszew 1947). Białka ziemniaka posiadają wiele własności enzymatycznych, między innymi aktywność amylazową, katalazową, oksydazy polifenolowej, kwaśnej fosfatazy oraz wykryte przez Boyda w 1949 roku własności aglutynacyjne. (Boyd, Requera 1949). Badania Mejbäum-Katzenellenbogen i wsp. wykazały, że tuberyna ziemniaka zawiera około 12% białek rozpuszczalnych w kwasie sulfosalicylowym (Mejbäum-Katzenellenbogen Morawiecka, Dobryszczycka 1960). Autorki do tych badań zastosowały mikrometodę taninową do ilościowego oznaczania białka (Mejbäum-Katzenellenbogen 1955), oraz do celów preparatywnych metodę zagęszczania przy pomocy taniny i kofeiny (Mejbäum-Katzenellenbogen 1959). Przydatność obu metod została potwierdzona w poprzedniej pracy (Mejbäum-Katzenellenbogen, Morawiecka 1959), w której wykazano, że zagęszczona tuberyna ziemniaka zachowuje aktywności kwaśnej fosfatazy i aglutynacyjną. W elektroforezie bibułowej zagęszczona tuberyna dzieli się na 4 lub 5 frakcji.

Białka rozpuszczalne w kwasie sulfosalicylowym lub nadchlorowym, określane w literaturze jako mukoproteidy, pochodzące z płynów i tkanek zwierzęcych są stosunkowo dobrze zbadane (Graham, Gottschalk 1960; Weimar, Mehl i Winzler 1960), natomiast brak jest danych odnoszących się do występowania i własności podobnych frakcji białkowych w materiale roślinnym.

Celem tej pracy było przebadanie w tuberynie ekstrahowanej z ziemniaków roztworem 0,9% chlorku sodowego, zawartości frakcji białkowych rozpuszczalnych w kwasie sulfosalicylowym, określanych w dalszej

części pracy frakcją mukroproteidową. Ponadto prześledzono zachowanie się tuberyny i mukroproteidów w okresie trwałego spoczynku ziemniaków i na początku okresu wegetacyjnego.

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

Materiały i metody

Ziemniaki średnio-wczesnej odmiany 'Epoka', pochodzące ze zbioru roku 1961, przechowywano w temperaturze $7^{\circ} \pm 2^{\circ}$, wilgotności względnej powietrza $60\% \pm 10\%$ w miesiącach od października do maja 1962 roku.

Odczynniki chemiczne, stosowane do metod analitycznych i preparatywnych, były chemicznie czyste, lub czyste do analizy.

Ekstrakcja tuberyny z ziemniaka.

Tuberyną, zgodnie z Osbornem zostało nazwane białko ziemniaka rozpuszczalne w roztworze 0,9% chlorku sodowego. Obrane i opłukane ziemniaki, osuszano w bibule filtracyjnej, krojono na skrawki i zalewano 0,9% roztworem chlorku sodowego zawierającego 0,1% podsiarczynu sodowego. Objętość roztworu odpowiadała wadze skrawków. Podsiarczyn sodowy hamował aktywność tyrozynazy i oksydazy polifenolowej, a tym samym chronił materiał przed ciemnieniem. Po 30 min. płyn znad skrawków zlewano, a pozostałość mechanicznie homogenizowano przez 1 minutę. Homogenat zalewano ponownie zlanym uprzednio znad skrawków roztworem i całość pozostawiano do ekstrakcji w temperaturze 4°C na okres 60 min. przygodnie mieszając. Następnie mieszaninę odciskano przez gazę, osad odrzucano, a płyn wirowano przy $1000 \times g$ przez 20 min., w celu usunięcia zhomogenizowanych tkanek i skrobi. W bezbarwnym i klarownym płynie oznaczano białko. Małą część objętości płynu, zwykle 5 lub 10 ml pobierano do zagęszczenia tuberyny według postępowania opisanego poprzednio (Mejbaum-Katzenellenbogen i Morawiecka 1959), a resztę płynu przeznaczano do preparacji mukroproteidów.

Preparacja białek rozpuszczalnych w 0,15 M kwasie sulfosalicylowym (mukroproteidów).

Do dwóch objętości wyciągu solnego dodawano mieszając jedną objętość 0,45 M kwasu sulfosalicylowego. Mieszaninę pozostawiano na okres 20 min. w temperaturze 4° , po czym wirowano przy $1000 \times g$ przez 20 min. Osad białek nierozpuszczalnych w kwasie sulfosalicylowym odrzucano. Płyn znad osadu sączono przez bibulę Whatmana 1, a następnie oznaczano w nim zawartość mukroproteidów i przeznaczano do zagęszczania przy pomocy taniny i kofeiny według postępowania opisanego przez Mejbaum-Katzenellenbogen (1959). Oddziaływanie przesą-

czu doprowadzano do pH 4,7 przy pomocy 0,1 N NaOH, a białko wytrącano taniną przy stosunku wagowym białka do taniny jak 1 : 1, pozostawiając do całkowitego wytrącenia w temperaturze 4° na okres 15 min. Następnie mieszaninę wirowano jak poprzednio. Płyn nad osadu nie zawierający białka odrzucano, a osad białkowo-taninowy po trzykrotnym przemyciu 0,9% roztworem chlorku sodowego regenerowano kofeiną. Do osadu kompleksu białkowo-taninowego dodawano dwukrotną ilość wagową kofeiny w stosunku do białka. Białko z kompleksu białkowo-taninowego uwalniano przy pomocy kofeiny mieszając osad szklaną pałeczką przez 15 min. w temperaturze pokojowej. Zregenerowany roztwór mukoproteidów oddzielano od osadu przez wirowanie przy $1000 \times g$ w ciągu 30 min. Osad płukano roztworem chlorku sodowego, a następnie rozpuszczano w 5 ml 0,1 N NaOH w celu oznaczenia nie zregenerowanego białka i obliczenia wydajności regeneracji. Jasnożółte roztwory zregenerowanego białka (mukoproteidów) poddawano elektroforezie bibułowej i badano aktywność enzymatyczną i aglutynacyjną.

Białko oznaczano turbidymetryczną mikrometodą taninową Mejbau-Katzenellenbogen (1955). Do oznaczeń stosowano fotokolorymetr prod. ZSSR FEK-M przy filtrze czerwonym. Krzywą standardową sporządzano dla żelatyny rozpuszczonej w 0,9% NaCl. Elektroforeza bibułowa i elucja frakcji mukoproteidowych.

Zagęszczone mukoproteidy ziemniaka poddawano elektroforezie bibułowej w 0,1 M moderatorze octanowym o sile jonowej 0,05, pH 5,1 w ciągu 5 godzin, przy spadku napięcia 0,9 V/cm długości paska i natężeniu wahającym się od 0,4 do 1 mA/cm szerokości paska bibuły. Na paski z bibuły Schleicher Schüll 2043 g o wymiarach 3×36 cm наносzono zagęszczone roztwory białek w odległości 4 cm od środka paska w stronę katody. Po zakończonej elektroforezie paski suszono w 110° przez 15 min., a następnie barwiono 0,2% roztworem ninhydryny w acetonie, fuksyną zasadową (Wunderly, Piller 1954) lub błękitem bromofenolowym w odczynniku taninowym (Mejbau-Katzenellenbogen i Dobryszczycka 1959). Z elektroforogramów barwionych błękitem bromofenolowym eluowano poszczególne frakcje 0,1 N NaOH przez 10 godz. w temperaturze pokojowej i oznaczano w nich zawartość białka.

Aktywność kwaśnej fosfatazy oznaczano jak w poprzedniej pracy (Mejbau-Katzenellenbogen i Morawiecka 1959) wobec fenilofosforanu jako substratu, przez pomiar przyrostu nieorganicznego fosforu metodą Fiske Subbarowa.

Własności hemaglutynacyjne oznaczano testem aglutynacyjnym opisanym w poprzedniej pracy (Mejbau-Katzenellenbogen i Morawiecka 1959). Do oznaczeń aktywności aglutynacyjnej w poszczególnych frakcjach elektroforetycznych, stosowano elucję przy pomocy 0,9% roztworu chlorku sodowego.

Suchą masę ziemniaków oznaczano w dwóch lub trzech równoległych nawązkach, pobieranych z 100 g zhomogenizowanych ziemniaków, suszonych do stałej wagi przez 4 godz. w 60°, a następnie przez 3 godz. w 105°.

WYNIKI

Suchą masę ziemniaków oznaczano w okresach trwałego spoczynku i budzenia się pączków wegetatywnych bulw ziemniaka. Wyniki oznaczeń zebrano w tabeli 1. Sucha masa ziemniaków wynosi średnio 20,78% świeżej masy w obu badanych okresach. W marcu i kwietniu sucha masa obniża się o 2% w porównaniu z okresem trwałego spoczynku.

Tabela 1 - Table 1

Zawartość suchej masy i wody w ziemniakach odmiany 'Epoka'
Dry weight and water content of the potatoes variety 'Epoka'

Okres Season		Sucha masa Dry weight %	Woda Water %	F*
Okres spoczynkowy Resting time	Listopad November 1961	21,24**	78,76	4,72
	Grudzień December 1961	21,57	78,43	4,63
	Styczeń January 1962	21,42	78,58	4,66
	Luty February 1962	21,45	78,55	4,66
	Marzec March 1962	19,47	80,53	5,13
	Kwiecień April 1962	19,58	80,42	5,10
Średnia ± śr. odchylenie Mean values ± standard deviation		20,78±0,31		

*F - współczynnik suchej masy.

F - Dry weight coefficient.

**Wartości średnie z dwóch lub trzech oznaczeń, dla których różnice nie przekraczały 2% błęd.

Mean values of 2 or 3 determinations for which the relative error lower than 2%.

Poziom tuberyny i mukoproteidów ziemniaka podano w tabeli 2. W okresie trwałego spoczynku zawartość tuberyny w ziemniakach wynosi średnio 2,74%, a mukoproteidów 0,36% suchej masy. Tuberyna w tym okresie zawiera średnio 13,7% mukoproteidów. W marcu i kwietniu stężenie tuberyny w ziemniakach wzrasta o 35% w porównaniu z okresem trwałego spoczynku. Zawartość procentowa mukoproteidów w tuberynie obniża się w tym okresie o około 1%.

Do dalszych badań tuberynę i mukoproteidy ziemniaka zagęszczano przy pomocy taniny i kofeiny. W poprzedniej pracy (Mejbaum-Katzenellenbogen i Morawiecka 1959) wykazano, że zagęszczona tuberyna zachowuje aktywność kwaśnej fosfatazy i w elektroforezie bibułowej dzieli się na cztery frakcje barwiące się błękitem bromofenolowym. Na ryc. 1 przedstawiono schematycznie elektroferogramy zagęszczonej tuberyny barwionej błękitem bromofenolowym i fuksyną zasadową. Wykazano, że fuksyną zasadową barwią się tylko dwie frakcje tuberyny najszybciej wędrujące w stronę anody.

T a b e l a 2 - T a b l e 2

Poziom tuberyny i mukoproteidów w świeżej i suchej masie ziemniaków odmiany 'Epoka'*

Tuberin and mucoproteins content in dry and fresh weight potatoes variety 'Epoka'*

Okres Season		Tuberyna Tuberin	Mukoproteidy Mucoproteins	Tuberyna Tuberin	Mukoproteidy Mucoproteins	Zawartość mukoproteidów w tuberynie Content of mucoprotein in tuberin %
		g/100 g świeżej masy g/100 g fresh weight		g/100 g suchej masy g/100 g dry weight		
Okres spoczynkowy Resting time	Listopad November 1961	0,55	0,075	2,60	0,35	13,4
	Grudzień December 1961	0,51	-	2,36	-	-
	Styczeń January 1962	0,54	0,075	2,52	0,35	13,9
	Luty February 1962	0,59	0,081	2,75	0,38	13,8
	Marzec March 1962	0,63	0,076	3,20	0,40	12,0
	Marzec March 1962	0,72	0,077	3,70	0,40	10,8
	Kwiecień April 1962	0,66	0,074	3,37	0,38	11,2
Średnie ± śr. odchylenie						
Mean values ±		0,60 ±	0,076 ±	2,92 ±	0,37 ±	12,5 ±
standard deviation		0,06	0,008	0,32	0,02	0,11

* Białka oznaczono mikrometodą taninową.

Protein was determined by tannin micromethod.

± Wartości średnie z 2 lub 3 oznaczeń, dla których różnice nie przekraczały 2% błędu.

± Mean values of 2 or 3 determinations for which the relative error was lower than 2%.

Ryc. 1. Elektroforogramy tuberyny ziemniaka barwione:

1 — błękitem bromofenolowym, 2 — fuksyną zasadową. S — miejsce naniesienia białka, ś — środek paska. Warunki elektroforezy podano w metodach

Electrophorograms of potato tuber protein stained with:

1 — bromphenol blue, 2 — basic fuchsin. S — the line of sample application, ś — center. Conditions of the electrophoresis given in Methods

Regeneracja mukoproteidów z kompleksów białkowo-taninowych przebiegała z wydajnością 89%. Po regeneracji uzyskiwano ok. 2% roztwory zagęszczonych mukoproteidów, które poddawano rozdzielowi w elektroforezie bibułowej. Elektroforogramy mukoproteidów barwione błękitem bromofenolowym, ninhydryną lub fuksyną zasadową zilustrowano schematycznie na ryc. 2. Mukoproteidy ziemniaka w elektroforezie bibułowej dzielą się na 8 frakcji. Za frakcję pierwszą przyjęto najszybciej wędrującą w stronę anody. Intensywność barwienia się mukopro-

Ryc. 2. Elektroforogramy mukoproteidów ziemniaka barwione:

1 — błękitem bromofenolowym, 2 — ninhydryną w acetonie, 3 — fuksyną zasadową. S — miejsce naniesienia białka, ś — środek paska. Warunki elektroforezy podano w metodach

Electrophorograms of potato mucoprotein stained with:

1 — bromphenol blue, 2 — ninhydrin in acetone, 3 — basic fuchsin. S — the line of sample application, ś — center. Conditions of the electrophoresis given in the Methods

teidowych frakcji błękitem bromofenolowym tylko w pewnym stopniu zależy od ilości białka w tych frakcjach. Frakcja VII pomimo, że zawiera prawie o połowę mniej białka niż frakcja I, barwi się intensywniej. Pozostałe mukoproteidowe frakcje barwią się znacznie słabiej, przy czym barwa błękitu bromofenolowego przybiera odcień żółtozielony. Barwienie ninhydryną oddaje wierniej stężenie białka w poszczególnych

frakcjach. Ponadto znaleziono charakterystyczne różnice pomiędzy tuberyną, a mukoproteidami przy barwieniu elektroforogramów fuksyną zasadową. Tuberyna zawiera dwie frakcje reagujące z fuksyną zasadową, a mukoproteidy tylko jedną. Dodatnia reakcja fuksyny z niektórymi frakcjami elektroforetycznymi świadczy o obecności komponenty cukrowej związanej z białkami. Aktywność kwaśnej fosfatazy obecna w tuberynie ziemniaka nie przechodzi do mukoproteidowej frakcji, natomiast odnajdywana jest w tej frakcji aktywność aglutynacyjna. Mukoproteidy

Tabela 3 - Table 3

Procentowy rozkład elektroforetycznych frakcji mukoproteidów ziemniaka, odmiany 'Epoka'
Electrophoretic separation of concentrated mucoproteins of potatoes, variety 'Epoka'

Okres Season		Elektroforetyczna frakcja białka jako % białka danego do elektroforezy* Protein of electrophoretic fractions as percentage of protein given for electrophoresis*								Białko całkowite Total protein µg	Białko po eluacji Protein recovery after elution %
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII		
Okres spoczynkowy Resting time	Grudzień December	10,2	3,8	1,6	4,1	40,6	29,7	6,4	3,6	860	98,1
	Grudzień December	9,2	3,9	2,9	4,3	38,3	30,3	6,9	4,3	860	109,1
	Styczeń January	10,5	3,2	3,2	4,3	33,9	29,5	5,9	8,5	600	109,1
	Styczeń January	11,5	6,1	4,2	3,1	35,7	28,2	6,5	5,0	530	99,0
	Luty February	8,2	3,3	3,4	2,1	39,2	30,6	6,1	7,0	610	107,2
	Luty February	8,3	3,7	1,9	1,9	44,1	30,4	7,5	3,1	605	105,5
Średnia ± śr. odchylenie Mean values ± standard deviation		9,7 1,3	3,9 1,1	2,9 0,9	3,2 1,3	38,5 3,5	29,8 6,9	6,6 0,6	5,3 2,3	- -	104,8 -
Marzec March		8,0	2,3	2,3	1,2	75,8	6,9	3,5		640	108,7
Kwiecień April		8,4	2,6	2,1	1,3	77,4	5,1	3,1		480	99,5

* Warunki elektroforezy papierowej i eluacji: patrz "Metody".

For conditions of the paper electrophoresis and elution, see "Methods".

± Wartości średnie z 2 lub 3 oznaczeń, dla których różnice nie przekraczały 5 % błęd.

± Mean values of 2 or 3 determinations for which the relative errors lower than 5 %.

ziemniaka, jak podano w tabeli 2, stanowią średnio 12% tuberyny, tak więc przez wytrącenie większości białek kwasem sulfosalicylowym uzyskano około 9-krotny wzrost aktywności aglutynacyjnej w przeliczeniu na białko. W obrazie elektroforetycznym mukoproteidów aktywność aglutynacyjna zlokalizowana jest we frakcji IV.

Mukoproteidy ziemniaka, jak to wykazano na ryc. 2, dzielą się na 8 frakcji. Udział procentowy białka w poszczególnych frakcjach elektroforetycznych zagęszczonych mukoproteidów przedstawiono w tabeli 3. W okresie trwałego spoczynku frakcje V i VI zawierają 68,3% mukoproteidów, a pozostałe sześć frakcji po kilka procent białka poddawanego elektroforezie. W okresie budzenia się pączków wegetatywnych frakcje V i VI nie oddzielały się od siebie i były oznaczane razem. Udział procentowy białka we frakcji IV wyraźnie obniża się podczas przechowywania ziemniaków. W pozostałych frakcjach zawartość procentowa białka waha się w granicach średniego odchylenia w badanym okresie przechowywania ziemniaków.

DYSKUSJA

Przydatność mikrometody taninowej do oznaczania białek roślinnych wykazano w poprzednich pracach (Morawiecka 1961; Morawiecka, Mejbäum-Katzenellenbogen 1963). W pracy tej wykazano, że białka ziemniaka rozpuszczalne w kwasie sulfosalicylowym uzyskane z wyciągów solnych dają się zagęszczać przy pomocy taniny i kofeiny z 89% wydajnością. Mejbäum-Katzenellenbogen uważa, że nie tylko białka, lecz i polipeptydy o ciężarze cząsteczkowym nie mniejszym niż 3000 dają nierozpuszczalne kompleksy taninowo-białkowe, z których białka lub polipeptydy można regenerować za pomocą kofeiny. W skład białek rozpuszczalnych w kwasie sulfosalicylowym wchodzi obok glikoproteidów również inne białka lub polipeptydy charakteryzujące się rozpuszczalnością w kwasie sulfosalicylowym i pod tym względem odpowiadające frakcjom białkowym bogatym w cukrowce, określanym w literaturze jako mukoproteidy. Mukoproteidy ziemniaka okazały się heterogenną frakcją różniącą się w elektroforezie bibulowej ruchliwością i powinowactwem do fuksyny. Z ośmiu frakcji tylko jedna barwi się pozytywnie fuksyną zasadową. Przypuszczano, że ewentualne zmiany metaboliczne zachodzące podczas przechowywania ziemniaków będą łatwiej uchwytne w materiale mukoproteidowym i polipeptydowym niż w tuberynie, która zawiera większość białek zapasowych. W okresie trwałego spoczynku nie stwierdzono istotnych odchyleń w poziomie tuberyny i frakcji mukoproteidowej, ani też w obrazach elektroforetycznych tych białek. Po pojawieniu się pączków wegetatywnych na bulwach ziemniaczanych zaobserwowano nie tylko istotne zmia-

ny w zawartości suchej masy, lecz i w mukoproteidach. Frakcje V i VI mukoproteidów zlewają się w jedną stanowiącą 68% całości materiału mukoproteidowego. Zawartość białka we frakcji IV obniża się. Wskutek tego, że frakcja ta zawiera drobne ilości białka, istotne zmiany stężenia białka zachodzące podczas pączkowania bulwy nie mają wielkiego wpływu na stężenie całkowite mukoproteidów. Większość materiału zapasowego bulwy ziemniaczanej stanowi skrobia, która ulega rozkładowi w okresie poprzedzającym pączkowanie bulwy ziemniaczanej i jest główną przyczyną obniżania zawartości suchej masy. Interesującą własnością biologiczną mukoproteidów jest aktywność hemaglutynacyjna, która nie ulega zniszczeniu pod wpływem kwasu sulfosalicylowego i nie obniża się w okresie przechowywania ziemniaków. Rola biologiczna tych substancji w ziemniaku nie została dotychczas poznana.

WNIOSKI

Z ziemniaków odmiany 'Epoka' wydzielono białka rozpuszczalne w kwasie sulfosalicylowym (mukoproteidy). Poziom mukoproteidów w ziemniakach stanowi średnio 0,37% suchej masy. Zawartość mukoproteidów w białkach rozpuszczalnych w roztworze chlorku sodowego (tuberyna) wynosi 12,5%. W elektroforezie bibułowej w moderatorze octanowym o $\text{pH} = 5,1$ i sile jonowej 0,05 mukoproteidy dzielą się na osiem frakcji, z których trzy wędrują do anody, a pozostałe do katody. Wszystkie frakcje barwią się błękitem bromofenolowym. Piąta frakcja mukoproteidów zawiera komponentę cukrową związaną z białkiem i dlatego barwi się fuksyną zasadową.

Prześledzono zachowanie się suchej masy, tuberyny i mukoproteidów w okresie trwałego spoczynku i budzenia się pączków wegetatywnych bulwy ziemniaczanej. W okresie budzenia się pączków wegetatywnych zauważono obniżanie się zawartości suchej masy, a wzrost poziomu tuberyny w porównaniu z okresem trwałego spoczynku. Poziom mukoproteidów w badanym okresie ulegał stopniowemu spadkowi. Charakterystycznymi zmianami dla końcowego okresu przechowywania były: spadek zawartości białka we frakcji IV, oraz brak rozdziału pomiędzy frakcjami V i VI. Stwierdzono, że mukoproteidy nie posiadają aktywności kwaśnej fosfatazy, zachowują natomiast pełną aktywność hemaglutynacyjną zlokalizowaną we frakcji IV mukoproteidów.

Pani prof. dr W. Mejbbaum-Katzenellenbogen, Kierownikowi Katedry Biochemii Uniwersytetu Wrocławskiego, składam podziękowanie za krytyczne uwagi i dyskusję podczas wykonywania tej pracy.

SUMMARY

Sulphosalicylic acid soluble proteins (mucoproteins) have been isolated from the potatoes of variety 'Epoka'. The level of the mucoproteins in the potatoes was 0,37% of their dry weight. In the tuberin the mucoproteins content was 12,5%. In paper electrophoresis (acetate buffer $\mu = 0,05$; pH 5,1) three fractions were anodic and the others cathodic ones. All fractions could be stained by the bromphenol-blue reagent. The mucoprotein fraction N° V possessed carbohydrate component and gave positive reaction with the basic fuchsin.

The changes of the dry weight and of the tuberin and mucoprotein content were determined during the resting period and in the early stages of the vegetation of the potato bulbs. At the recent stage a decrease in dry weight and an increase in the tuberin level were observed. The level of the mucoproteins was lowering, compared to the resting period. The changes characteristic for the early stage of the vegetation were: decrease of the protein content in the fraction N° IV and the lack of separation between the electrophoretic fractions No V i VI.

It was proved that the potato mucoproteins lack the activity of acid phosphatase, but it possessed the full hemagglutininic activity, localized in the fraction No IV.

LITERATURA

- Boyd W. C., Rose Requera, 1949 J. Immunolog 62:333.
Graham E. R. B., Gottschalk A., 1960, Biochim. Bioph. Acta 38:513.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., 1955, Acta Biochim. Polon. 2:279.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., 1959, Acta Biochim. Polon. 6:375 i 385.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., Dobryszczycka W., 1959, Clin. Chim. Acta 4:515.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., Morawiecka B., Dobryszczycka W., 1960, Acta Biochim. Polon. 7:401.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., Dobryszczycka W., Morawiecka B., 1961, Nature 192:262.
Mejbaum-Katzenellenbogen W., Morawiecka B., 1959, Acta Biochim. Polon. 6:453.
Morawiecka B., 1961, Acta Biochim. Polon. 8:313.
Morawiecka B., Mejbaum-Katzenellenbogen W., 1963, Clin. Chim. Acta 7:722.
Osborne Th., Strause E., 1921, Handb. Biol. Arbeitsmeth. 1:453.
Prokoszew S. M., 1947, Biochimia kartofiela, Moskwa ZSRR.
Weimar H. E., Mehl J. M., Winzler R. J., 1950, J. Biol. Chem. 185:561.
Wieland H., Sutter H., 1930, Ber. Dtsch. Chem. Gessel. 63:66.
Wunderly Ch., Piller S., 1954, Klin. Woch. 32:425.