

Metoder til tørstofbestemmelse i plantestof

Af M. Nissen

Forord

Ved arbejde med tørstofbestemmelse i kartofler dels ved tørring i ovn, dels ud fra vægt i vand blev det påvist, at der under tørring ved 100° sker et tørstoftab. For at finde ud af hvorfra dette tørstoftab stammer, og hvordan der kan udføres en nøjagtig tørstofbestemmelse, blev der arbejdet videre med spørgsmålet.

Til anskaffelse af apparatur til undersøgelserne har *Statens almindelige Videnskabsfond* 1956 bevilget midler, hvorfor jeg takker. Desuden skylder jeg tak til afdøde forstander *Tage Andersen* og forstander *Sv. E. Hansen* for støtte til arbejdet, som er udført, når arbejdet ved Tylstrup forsøgsstations laboratorium og kartoffelforædlingen tillod det.

Desuden ønsker jeg at takke en række forskere, som har givet råd og vejledning ved arbejdet. Særlig tak til professor, dr. phil. *D. Müller*, som har tilskyndet til at få undersøgelserne gennemført og vejledet på mange måder. Tak til professor, dr. techn. *Holger Jørgensen*, som lod mig arbejde en tid i laboratoriet i Odensegade, til professor, dr. phil. *Kaj Drenck* og lektor *S. Brogaard*, under hvis vejledning jeg arbejdede en tid i Landbohøjskolens fysiske laboratorium, hvilket har været mig til stor hjælp. Ligeledes tak til professorerne, dr. phil. *Anders Kjær*, *K. A. Bondorff* og *S. Tovborg Jensen*.

INDHOLDSFORTEGNELSE

	Side
Indledning	91
Definition på tørstof	91
Er der for plantestoffer en skarp grænse mellem tørstof og vand	91
Den nøjagtighed, der sædvanlig opnås ved tørstofbestemmelser	92
Tørringens gennemførelse	92
Tørring i vakuum	93
Grunden til at tørstofbestemmelse i plantestoffer er vanskelig	95
Tørstofstab ved tørring	96
Maillard-reaktionen	99
Iltning	101
Tørstofbestemmelse i grønafrøder	103
Tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri	103
Symboler der er benyttet	104
Det teoretiske grundlag for pyknometri	104
Undersøgelser over opløselige stoffers vægt i vand	106
Vægt i vand af opløsninger med kontraktion	107
Kontrol på tørringen i ovn ved hjælp af pyknometri	110
Diskussion	113
Sammendrag	113
Summary	114
Litteratur	115

Indledning

Plantestoffernes næringsværdi er i høj grad betinget af deres tørstofindhold, hvorfor der ofte udføres tørstofbestemmelser. Som regel bestemmes tørstoffet ved tørring i termostat med elektrisk opvarmning. Der indsættes en afvejet prøve i ovnen og efter passende tørring vejes prøven igen. Det fundne vægttab regnes som vand, medens det tilbageblevne stof regnes som tørstof. Tørstofbestemmelsen er tilsyneladende en analyse, der er let at udføre. Sendes prøver, som er helt ens, til forskellige laboratorier, viser det sig imidlertid, at resultatet af tørstofbestemmelserne ofte varierer ret stærkt fra laboratorium til laboratorium. Det er derfor en almindelig anskuelse, at tørstofbestemmelse i plantemateriale er en vanskelig analyse. *Joslyn* (1950) har foretaget en ret omfattende gennemgang af litteraturen angående tørstofbestemmelser. Han udtaler: »Tørstofbestemmelsen er en af de vanskeligste analyser fødemiddelkernikeren bliver stillet over for«.

I den foreliggende afhandling er der gjort forsøg på at finde årsagerne til, at tørstofbestemmelse er vanskelig, og at angive en ny metode til tørstofbestemmelse.

Arbejdet er udført ved siden af det normale arbejde. Allerede 1957 blev der udført en del undersøgelser. Teknikken ved de først gennemførte undersøgelser var ikke altid tilfredsstillende, eftersom det først er under arbejdet med opgaven, at den rette forståelse af forholdene er opnået.

Definition på tørstof

Nogle mener det er umuligt at udføre en nøjagtig tørstofbestemmelse i plantestoffer. Der fastsættes derfor standardbetingelser for tørringen, og hvad der bliver tilbage efter denne tørring, betegnes som prøvens tørstofindhold. Vi har derfor to definitioner på tørstof:

1. Tørstof er det vandfri stof.
2. Tørstof er den rest, der bliver tilbage efter tørring ved standardbetingelser.

Når stoffer indeholder andre flygtige stoffer end vand (alkoholer, flygtige syrer) må disse bestemmes særskilt.

Er der for plantestoffer en skarp grænse mellem tørstof og vand

Det synes at være en ret almindelig antagelse, at der for plantestoffer ikke er nogen skarp grænse mellem, hvad der er tørstof og hvad der er vand. Men man kan så spørge, hvor den jævne overgang er mellem hvad der er tørstof og hvad der er vand. Det kan næppe tænkes at være mellem vand og sukkerstoffer, pektin, cellulose eller proteinstoffer. Disse stoffer kan i ren tilstand tørres ved over 100° uden tørstoftab. Fructose afgiver dog vand fra selve stoffet ved lidt under 100°, men ikke CO₂. Sukkerarterne binder vandet meget stærkt, men der er ingen udflydende grænse mellem, hvad der er sukker og hvad der er vand. Sukkerets massefylde er ca. 1,6 og vandets 1,0. Der må foregå en gennemgribende ændring af stofferne, for at vand kan gå ind i suktermolekylet. Tørres der ved ca. 80°, kan der i nogle plantestoffer ske et lille tørstoftab fremkaldt af Maillard-reaktionen. Dette tab kan fortsættes meget længe, og give grundlag for den antagelse, at der ikke er en skarp grænse mellem tørstof og vand. Underligt nok synes Maillard-reaktionen ikke før *Nissen* (1963) at være sat i forbindelse med vanskelighederne ved at udføre en nøjagtig tørstofbestemmelse.

Der er foretaget mange undersøgelser vedrørende tørstofbestemmelse. *Madsen Mygdal og Christensen* (1913) har påvist, at der kan ske tørstoftab under en tørring, og at tabet skyldes indhold af reducerende sukkerarter. Ud fra nedgangen i sukkerindholdet under tørringen, blev der fundet et mål for tørstoftabet. For kålroer og turnips er beregnet et fald på 0,70 til 1,00 i tørstofprocenten. *Middelboe og Müller* (1945) har påvist, at af tørstoffet i kålroer er ca. 50 pct. monosaccharider og deraf ca. 2/3 glucose og 1/3 fructose.

Foruden ved tørring er der foreslået forskellige metoder til tørstofbestemmelser. De fleste giver ikke nøjagtige resultater. *Fischer* (1935) har angivet en metode til vandbestemmelse, som kan give nøjagtige resultater. Den er ret vanskelig, og synes ikke egnet til tørstofbestemmelse i de alm. forekommende planteprodukter.

Den nøjagtighed, der sædvanlig opnås ved tørstofbestemmelser

Udtages der af større prøver af finmalet byg og kålroer, som har fået tid til at indstille sig til luftens fugtighed, 10 prøver i glas med gummiprop, der sendes til 10 forskellige laboratorier med anmodning om at få bestemt vandindholdet i de 10 prøver, vil resultatet sandsynligvis vise sig at variere ret stærkt fra laboratorium til laboratorium. Den fundne vandprocent i byg kan forventes at blive opgivet ca. 1 for lavt, medens den for kålroer vil blive opgivet endnu mere for højt, fordi der ved Maillard-reaktionen er sket tørstof-tab. Selv om prøverne bliver sendt med anmodning om at få dem tørret 20 timer ved 80°, kan der ikke ventes god overensstemmelse mellem resultaterne fra 10 forskellige laboratorier. Det er ikke usandsynligt, at der kan forekomme afvigelser i de fundne vandprocenter på 5-20 pct. Den procentiske fejl kan angives ud fra pct. vand eller ud fra pct. tørstof.

I »Arbejdsmetoder« fastsat af ministeriet (1958) angives den tilladte afvigelse af vand mellem dobbeltbestemmelser i foderstoffer til 1 pct. af værdien, dog højst 0,2. God overensstemmelse mellem fællesbestemmelser er imidlertid ikke det samme som rigtige bestemmelser, og dette gælder særlig ved vandbestemmelser, eftersom der ved disse bestemmelser ofte forekommer store systematiske fejl. Resultatet af de fleste analyser, der udføres i plantestoffer, angives i pct. af tørstoffet. Derfor er det vigtigt at kunne udføre en rigtig bestemmelse af tørstoffet. Den nøjagtighed, der kan opnås for en tørstofbestemmelse ved at tørre frit i ovn, er ikke tilfredsstillende. Ved tørring i vakuum kan opnås langt større nøjagtighed end ved alm. tørring frit i ovn.

Tørringens gennemførelse

For at blive orienteret angående tørring ved hjælp af opvarmning dels frit i ovn dels i vakuum sammen med et vandsugende stof, blev prøver af lufttørt, fintmalet byg og kålroer hensat i glas med gummiprop, så vandindholdet (byg 12,8 og kålroer 7,1 pct.) kunne holde sig konstant. Byg og kålroer blev tørret sammen fordi de opfører sig meget forskelligt under en tørring frit i ovn. Til

undersøgelserne afvejedes 3 fællesprøver à 5 g i vejeglas med låg. Det blev antaget, at prøverne, efter tørring ca. 60 timer ved 50-60° i vakuum over konc. svovlsyre, var vandfri. Vandindholdet i prøverne ved de forskelligt undersøgte tørringer blev beregnet ud fra prøvernes vægt ved de 60 timers tørring og er vist i fig. 1, 2 og 3. Antagelsen, at stoffet var vandfrit efter tørring i vakuum ved 50-60° i 60 timer må tages med et vist forbehold. Det vil senere blive omtalt, at mange plantestoffer er meget stærkt vandsugende, så selv om det ved tørring i vakuum var lykkedes at få alt vand fra f.eks. byg til at gå over på et tørremiddel, ville det være meget vanskeligt at sætte låget på vejeglasset og få afkølet, uden at bygprøven igen optog små mængder vand.

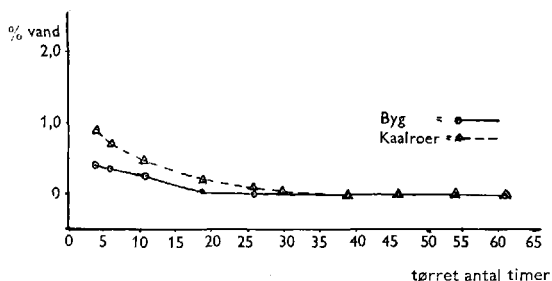


Fig. 1. Tørret i vakuumovn med konc. svovlsyre ved 50-60°.

På fig. 1 er vist en tørring i vakuum over svovlsyre. Det ses, at det meste af det vand, der var i stofferne, er fordrevet efter 4 timers tørring i vakuum. Efter tørring 20-30 timer for byg og 30-40 timer for kålroer var vægten konstant. Stoffet må derfor efter denne tørring anses for at være meget nært vandfrit. Dog kan det ikke forventes, at der kan opnås større nøjagtighed, end at der kan forekomme afvigelser fra det rigtige på mindst 0,1 pct. vand. Opnås der ved en tørring i vakuum med et effektivt tørremiddel konstant vægt over et længere tidsrum, er det bevis på, at tørringen har været omtrent fuldstændig og alligevel ikke har forårsaget tørstof-tab.

På fig. 2 er vist tørring frit i ovn ved 80°. Efter 4 timers tørring var der 1,1 pct. vand tilbage i bygprøverne, medens der var sket et tørstof-tab på ca. 0,3 pct. for kålroepøverne. Reelt var tørstof-tabet for kålroerne betydeligt større. På fig. 1 ses, at ef-

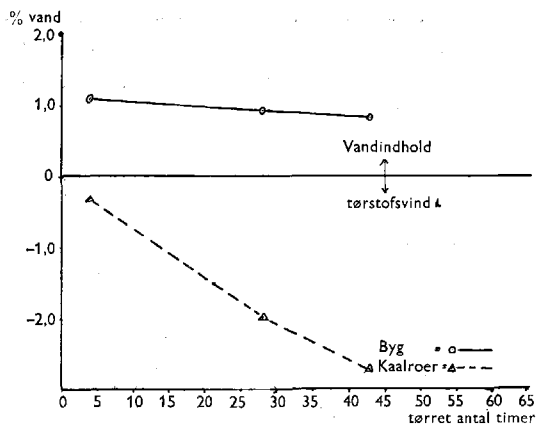


Fig. 2. Tørret frit i Heraeusovn ved 80°

ter 4 timers tørring er vandindholdet større i kålroer end i byg. Det må antages, at det samme er tilfælde ved tørring frit i ovn. Ved fortsat tørring er der fundet et jævnt vægtsvind, der for byg er ret ringe, idet der efter 43 timers tørring endnu er fundet 0,83 pct. vand i prøverne. For kålroer har vægtsvindet været større. Efter 43 timer er det beregnet til at svare til et tørstofstab på 2,73 pct.

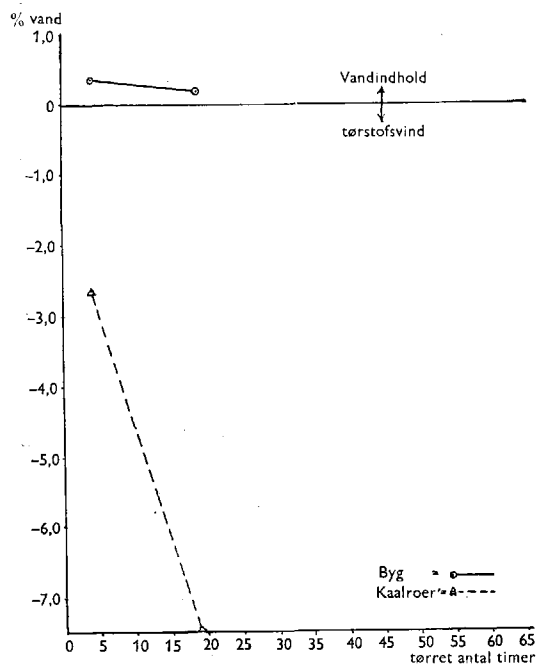


Fig. 3. Tørret frit i Heraeusovn ved 100°

På fig. 3 er vist en tørring frit i ovn ved 100°. Efter 4 timers tørring er der knapt 0,4 pct. vand tilbage i byg og et tørstofstab for kålroer på ca. 2,6 pct. Efter tørring 19 timer var der ca. 0,2 pct. vand i byg og et tørstofstab for kålroer på ca. 7,5 pct.

Sammenligning af de tre figurer viser tydeligt, at såfremt byg og kålroer skal tørres sammen, bliver det vanskeligt at få brugbare resultater af en tørstofbestemmelse frit i ovn. Ved langvarig tørring frit i ovn ved lidt over 100°, vil det for fint malet byg være muligt at fordrive omtrent hele vandindholdet. Samtidig vil der imidlertid forsvinde en stor del af kålroernes tørstof.

Tørring i vakuum

Af det foregående fremgår, at for at få en nogenlunde rigtig tørstofbestemmelse i plantestoffer, er det nødvendigt at tørre i vakuum. For at få nøjagtige resultater af en vakuamtørring, må der tages hensyn til visse forhold og der kan anføres følgende regler:

Trykket skal holdes tilstrækkeligt lavt.

Den dannede vanddamp skal opsuges i et effektivt tørremiddel.

Der skal tørres så lang tid, at stoffets vægt bliver konstant.

Tørretemperaturen skal være omtrent så høj, som den kan tåle at være uden at fremkalde tørstofstab.

Tørringen kan enten foregå i en vakuumovn med varmeanordning eller i en vakuumekekssikator, der kan indsættes i en termostat. Trykket skal helst ned under 1 mm Hg, men det synes ikke at fremme tørringen væsentligt, at trykket bliver lavere.

Fjernelse af den dannede vanddamp kan foretages enten ved frysning eller ved opsugning i et stærkt vandsugende stof. Skal vanddampen fjernes effektivt ved frysning, må det ske ved meget lav temperatur. Der er foretaget undersøgelser over nogle stoffers vandsugningsevne. Konc. svovlsyre, alumina og fosforpentoxid viste sig brugbare ved vakuamtørring. Bedst virkede svovlsyre, da den kan optage ret store vandmængder uden at miste den vandsugende evne. Ved sluttørring er det nødvendigt at benytte 96 pct. svovlsyre.

syre. Indeholder svovlsyren ret meget mere vand, vil helt tørre plantestoffer være i stand til at tage vand fra svovlsyren. Da svovlsyre er stærkt ætsende, er den ubehagelig at arbejde med, og derfor er det mere tiltalende at benytte alumina. Dette stof kan imidlertid ikke optage så meget vand som svovlsyren, uden at miste den stærkt vandsugende evne. Tørt fosforpentoxid synes at være det stærkeste vandsugende stof, men kan kun optage ret små mængder vand, uden at miste den store vandsugningsevne, da der dannes en tæt hinde på overfladen, når der optages vand. Det egner sig derfor kun til sluttørning, når stoffet er omtrent tørt. Ved 50-60° kræves lang tids tørning i vakuum for at stoffet kan nå konstant vægt. Tørretiden påvirkes af, hvilket stof der skal tørres, og ligeledes af hvor tykke lag der skal tørres. Tørretiden påvirkes også af tørremidlets vandsugningsevne og af temperaturen. Er der kun ganske lidt vand tilbage i det stof, der skal tørres, kan temperaturen sættes op til 70-80° en kortere tid, da Maillard-reaktionen kræver vand for at komme i gang. For at være helt sikker på, at der ikke er sket tørstof-tab ved en tørning, er det nødvendigt at bestemme stoffets vægt i vand pr. 100 g. Så længe denne vægt ikke formindskes ved tørningen, er der ikke sket tørstof-tab. Tørrehastigheden forøges stærkt med stigende temperatur. Derfor bør der tørres ved så høj en temperatur, som det er muligt, uden at der sker et måleligt tørstof-tab.

Sættes 20-30° varmt, fugtigt stof pludseligt under vakuum, vil der ske en eksplosionsagtig fordampning fra stoffet, så længe dette er varmt. Fordampningen vil hurtigt afkøle stoffet, og derefter er det varmetilførselen, der bestemmer fordampningshastigheden.

Efter forfatterens tegning er der af lokale håndværkere konstrueret en vakuumovn. I ovnen er indsat en plan, ret tynd radiator, hvorpå prøverne stilles til tørning, og hvorigennem der fra en cyclotherm kan pumpes vand af den ønskede temp. Foroven i ovnen er påmonteret 3 elektriske varmelegemer, som efter ønske kan sende strålevarme ned over de prøver, der skal tørres. Ca. 5 cm under radiatoren er ovnen delt med en skillevæg, der på langs har en ca. 1 cm bred spalte ned til en beholder, hvori der er anbragt et rørsystem, hvor-

igennem der kan ledes ledningsvand. Tørres græs prøver eller pulp af roer og kartofler, er det – for at få hurtig tørning – nødvendigt med ovenvarme. Ledes 8-10° varmt vand gennem rørsystemet, vil den ved stoffets vandafgivelse dannede damp kondenseres på disse og samle sig i beholderen, fra hvilke det kan tappes ud, når luften er lukket ind i ovnen. Kondenseres damp ved 8-10°, kan byg ikke tørres længere ned end til ca. 2 pct. vand. Ved en sådan tørning er det meget forskelligt, hvor langt vandindholdet kan bringes ned for de forskellige plantestoffer. Det er derfor nødvendigt, at dampen, der dannes ved sluttørningen, optages i et stærkt vandsugende stof, som f. eks. konc. svovlsyre, men først må ovnen være tør. Efter at det kondenserede vand er tappet af beholderen, er det formålstjenligt at lede vand fra varmtvandshanen gennem rørsystemet og anbringe en beholder med svovlsyre på skillevæggen, såfremt ovnen skal tørres. Ovnen vil så blive tør, når der har været vakuum i den ca. 1 time. Da det er lidt besværligt med denne tørning af vakuumovnen, kan de meget fugtige prøver i stedet for tørres ved ca. 50°, ved at stå frit i ovn med kraftig luftcirkulation, til de opnår omtrent konstant vægt og først derefter tørres i vakuum.

For at få nærmere kendskab til forløbet af en tørning af plantestoffer i vakuum, blev der taget 6 forskellige prøver i arbejde med 2 fællesprøver à 5 g. Til opslugning af den dannede vanddamp benyttedes 96 pct. svovlsyre. De samme prøver er benyttet under hele forsøget og under tørningen har de stået ved et tryk på ca. 1 mm Hg undtagen ved tørning frit i ovn og i vandmættet vakuum.

Efter tørning i over 100 timer blev stoffet betragtet som vandfrit. Derefter sattes der stigende mængder vand til den svovlsyre, som skulle opsuge vand. Det viste sig, at vandet bevægede sig fra svovlsyren hen til det omtrent vandfri plantestof. Der er dog stor forskel på, hvor meget vand de forskellige stoffer kan tage fra svovlsyre. Efter at svovlsyren var fjernet fra ovnen, blev der indsat overskud af vand, og prøverne stod 4 timer under vakuum i den nu fugtige ovn, og de optog alle meget vand. Efter at prøverne var vejjet, blev de indsat i ovn med mekanisk luftventilation, hvor de stod frit 20 timer ved 80°. Derefter blev de igen

Tabel 1. Tørring i vakuumovn

g vand optaget i 100 g	Tørring		pct. vand						
	96 pct.	antal		byg-	kløver-	kar-	bede-	kål-	
svovlsyre	timer	temp.	byg	halm	græs	tofler	roer	roer	
Stof før tørring 21/1 66 ...			12,73	6,01	7,31	8,63	2,51	7,14	
ca. 2,0	4	58°	0,45	0,08	0,36	1,00	0,67	0,95	
0,4	15	58°	0,13	0,06	0,17	0,29	0,28	0,32	
0,6	6	57°	0,08	0,03	0,13	0,22	0,22	0,26	
0,7	15	59°	0,06	0,04	0,11	0,14	0,15	0,16	
0,3	45	59°	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,01	
0,5	22	53°	0	0	0	0	0	0	
5,0	5	52°	0,06	0,04	0,08	0,05	0,02	0,02	
20,0	15	52°	0,37	0,22	0,29	0,26	0,06	0,04	
50,0	6	52°	2,12	1,41	1,55	1,81	0,44	0,48	
50,0	15	ca. 20°	4,12	2,75	2,77	3,60	0,88	0,95	
Indsat vand i overskud i vakuumovn									
Vandmættet	4	30°	14,88	11,89	15,01	15,92	13,69	20,95	
Tørret frit i ovn uden vakuum									
	20	80°	0,97	0,48	0,46	0,67	0,01	÷ 1,28	
Tørret i vakuumovn med svovlsyre									
0,7	65	52°	0,06	0,02	÷ 0,07	÷ 0,12	÷ 0,11	÷ 1,47	

tørret i vakuum sammen med svovlsyre. Resultatet af den ret langvarige undersøgelse er vist i tabel 1.

I den første rubrik i tabel 1 er anført, hvor mange pct. vand den 96 pct. svovlsyre efter hver tørrings afslutning indeholdt ekstra. Angående de 6 forskellige plantestoffers opførsel under en tørring, kan der ud fra tabel 1 fås en del oplysninger. Det ses, at bygghalm efter 4 timers tørring i vakuum ved 50-60°, praktisk talt er vandfri, medens kartofler og kålroer endnu indeholder ca. 1 pct. vand. Selv efter 40 timers tørring indeholder kløvergræs, kartofler, bederoer og kålroer endnu lidt over 0,1 pct. vand. For at få disse stoffer tørret i vakuum på en rimelig tid, er det nødvendigt at temperaturen ved sluttørringen sættes noget over 60°. Allerede når der er tilsat 5 pct. vand til svovlsyren, er det stærkt tørrede stof i stand til at optage små mængder vand ved tørring i vakuum. Der er stor forskel på, hvor stor en mængde vand de forskellige stoffer er i stand til at optage fra vandholdig svovlsyre. Bederoer og kålroer kan kun optage små mængder, medens byg kan optage ret be-

tydelige mængder. Fra et vandmættet rum har kålroer optaget store mængder vand og betydeligt mere end nogen af de andre stoffer. Ved at tørre 20 timer ved 80° frit i ovn, er det meste af det optagne vand igen fordrevet. Samtidigt er der på grund af Maillard-reaktionen sket et ret stort tørstof-tab fra kålroerne. Tørring 20 timer ved 80° er ikke i stand til at fordrive alt vand fra prøverne. Ved at fortsætte tørringen i vakuum viste det sig, at der ikke alene var sket tørstof-tab fra kålroerne, men også fra kløvergræs, kartofler og bederoer.

Grunden til at tørstofbestemmelse i plantestoffer er vanskelig

Ud fra tabel 1 kan udledes, at det ved tørring frit i ovn er vanskeligt at udføre en nøjagtig tørstofbestemmelse i de 6 stoffer der er undersøgt. Kun for bederoer har tørringen været passende. Kålroerne har haft et ret stort tørstof-tab forårsaget af Maillard-reaktionen, medens der for kløvergræs, kartofler og bederoer kun har været et lille tørstof-tab. Sættes tørretemperaturen op, stiger tørstof-tabet stærkt. På fig. 3 ses, at tørstof-tabet for kål-

roer ved tørring 19 timer ved 100° er over 7 pct. Det er Maillard-reaktionen, der gør tørstofbestemmelse i plantestoffer vanskelig. Mange plantestoffer fastholder vand meget stærkt, men var der ikke mulighed for tørstof-tab ved Maillard-reaktionen, kunne tørretemperaturen sættes så højt, at alt vand blev fordrevet.

Der kan ikke alene ske tørstof-tab ved Maillard-reaktionen, men også ved iltning. Medens Maillard-reaktionen forekommer i ret tørre stoffer ved over 60°, forekommer iltning i friske grønne vandholdige stoffer ved under 60°.

Iltningen må antages hovedsageligt at skyldes en ånding i levende celler, medens Maillard-reaktionen skyldes, at monosaccharider sammen med aminosyrer danner sukker-aminosyre-kondensater, der ved opvarmning fraspalter CO₂ + vand. Ved opvarmning til ca. 110°, spaltes de enkelte bestanddele af plantestoffer ikke, når de holdes hver for sig. Fructose spaltes dog ved lidt under 100°. Sukkerarterne fastholder vand meget stærkt, og vanskeliggør derfor en fuldstændig tørring af plantestoffer. Ved at sætte vand til sukker og derefter igen borttørre vandet ved opvarmning, fås et mål for, hvor fast vandet er bundet. I tabel 2 er vist en tørring af 3 g stof tilsat 5 g vand. Prøverne er vejte 5 gange efter fortsat tørring. Til kontrol blev også tørret prøver, hvortil der ikke var sat vand.

synes at være omtrent vandfrit. Ved 100-105° blev det svagt gulligt og ved 125° brunt. For rørsukker og druesukker har vægten omtrent holdt sig konstant, så der er kun sket ringe omdannelse ved opvarmning til 125°. For fructosens vedkommende er der derimod sket et stort vægttab, som er begyndt ved mellem 80° og 100°. Det synes ikke at være iltning, der forårsager tabet, og der sker ikke tab af CO₂. Fructose bliver mørkebrunt ved den stærke tørring.

Ud fra resultaterne i tabel 2 kan udledes, at det er vanskeligt at tørre alt vand ud af stoffer, som indeholder sukker eller stivelse. Man kan ikke forvente at få vandfrit sukker eller stivelse ved at tørre 20 timer ved 80°. Tørres i stedet ved 125° er der mulighed for at få stoffet vandfrit, og for de rene stoffer, undtagen fructose, synes der ikke at være fare for større tab derved. Drejer det sig derimod om selve planterne eller dele af planterne, kan der ske et stort tørstof-tab ved opvarmning til 125°.

Tørstofstab ved tørring

Opvarmes plantestoffer i lang tid til høj temperatur, brunfarves de og der sker et tørstof-tab. Foretages opvarmningen i en kolbe lukket med gummi-prop forsynet med to gennemboringer, hvorigen-nem der er ført ledninger, som tillader en luft-strøm at passere igennem kolben, kan der føres kontrol med omsætningen i kolben. Sker opvarm-

Tabel 2. Tørring af sukker og stivelse

Tørring		Tilbage efter tørring af stof + vand i pct. af afvejet stof							
		fructose		glucose		rørsukker		stivelse	
antal		tilsat	uden	tilsat	uden	tilsat	uden	tilsat	uden
timer	temp.	vand	vand	vand	vand	vand	vand	vand	vand
39	58°	107,00	99,91	107,11	99,89	128,60	99,97	86,36	85,81
+ 22	80°	102,23	99,85	105,42	99,89	120,83	99,96	84,18	83,64
+ 22	100-105°	96,21	96,08	103,48	99,87	106,45	99,96	83,12	82,79
+ 22	115-118°	87,80	87,15	102,02	99,76	102,12	99,94	82,73	82,54
+ 22	125°	82,33	81,74	99,94	99,60	101,02	99,55	82,62	82,53

Tabel 2 viser, at det er vanskeligt navnlig fra rørsukker at fjerne alt vand ved tørring. Den stærke fastholden af vandet skyldes delvis sukkerets konsistens. Tørres det opløste sukker i vakuum, vil det efter at være indtørret blære stærkt op, og derved lettes tørringen. Sukkeret, der er benyttet,

ningen i termostat, kan ledningerne føres ud gennem ventilen. Luftstrømmen må befries fuldstændigt for vand og CO₂, før den føres ind i kolben. Efter at ledningen er ført ud af termostaten, føres den gennem en kolbe, der står i en kuldeblending, og derfra til et rør med tør alumina, hvorefter

luftstrømmen vil være tør. CO_2 opsamles ved at lede den tørre luftstrøm gennem en beholder med natronkalk og derefter gennem et rør med tør alumina. Til sidst føres luftstrømmen gennem bariumhydroxydopløsning med indikator, for at sikre at alt CO_2 er blevet opsamlet. Sugningen kan fås fra en vandstrålepumpe med trykregulator, som giver en sugning på ca. 15 cm vandsøjle. Alle de benyttede kolber og rør vejes på analysevægt.

I tabel 3 er anført resultaterne fra nogle undersøgelser 1964. Der er ført kontrol med vægtsvindet for kolben med stoffet, der opvarmes i termostaten, og med vand og CO_2 , der destilleres over. Da vægten af overdestilleret vand og CO_2 er fundet større end vægtsvindet for det opvarmede stof, må det antages, at der er sket en iltning af stoffet.

Stofsvindet synes dog ikke at være en følge af iltning, eftersom tørstofabet ikke formindskes fordi luftstrømmen standses. For forsøgene påbegyndt 10/3 har luftstrømmen været standset, undtagen ca. 3/4 time de tre gange før der blev vejat, og her har iltoptagelsen været ganske ringe, skønt stofabet er beregnet til at være 18,8 pct.. Tørstofabet må derfor antages at skyldes Maillard-reaktionen, og ikke en simpel iltning. Tørstofabet er åbenbart betinget af, at der er sukker-aminosyre-kondensater til stede. Er der rigeligt med ilt, går denne ind i processen uden dog at fremme den. Ved forsøgene 10/3 og 12/3 er der med en pipette tilsat stoffet i kolben ca. 4 pct. vand, hvorved vandindholdet kom op på ca. 8 pct. For at Maillard-reaktionen kan komme i gang, må der i stoffet findes monosaccharider sammen med aminosyrer og passende vand (ca. 10 pct. vand). Er vandindholdet under 1 pct., har Maillard-reaktionen vanskeligt ved at komme i gang. Fra forsøget påbegyndt 12/3 blev stoffet i kolben efter afslutning af forsøget tørret ved 50° i vakuum. Det viste sig at indeholde 3,4 pct. vand, selv om der forud var tørret 44 timer ved ca. 100° .

Det overdestillerede vand fra kålroerne var ret stærkt surt. Fra forsøget 12/3 svarede destillatet til 4,6 ml 1 n NaOH. Ved inddampning fandtes 0,380 g af natriumsalt. Sandsynligvis drejer det sig om myresyre, idet ferriklorid gav reaktion for

myresyre. Det er ikke undersøgt, om der er andre syrer.

Spaltningsforholdet for kålroer fra 12/3 viste sig at være: 1 del CO_2 til 6 dele vand + 0,14 dele myresyre. Maillard angiver spaltningsforholdet at være 1 del CO_2 til 12 dele vand. Reaktionen må være en ret sammensat proces, hvor mere eller mindre ilt kan indgå, og hvor der ikke altid spaltes helt ned til CO_2 , men kan afsluttes med myresyre. Allerede ved 60° er der CO_2 udvikling og ved 80° er den for kålroer ret betydelig. Stoftabet forøges stærkt med stigende temp. For undersøgelsen påbegyndt 2/3 er stoftabet dog faldende efter 4 døgn, selv om temperaturen blev forøget til 110° . Ved Maillard-reaktionen er det sædvanligt mængden af monosaccharider, der er bestemmende for, hvor stort tørstofabet kan blive.

Tørstofabet ved opvarmning af prøverne anført i tabel 3 er beregnet ved at trække vandindholdet, der var i prøverne før undersøgelsen begyndte, fra det fundne vægtsvind af stoffet. For prøverne 2/3 og 10/3 er ikke undersøgt pct. vand i stoffet efter forsøgets afslutning, og derfor er tørstofabet større end fundet, idet vand har erstattet fordrevet tørstof. For byg er kun fundet et ganske lille tørstofab, og spaltningsforholdet er ca. 1 del CO_2 til 1 del vand. Det kunne forventes, at tørstofabet havde været noget større i forhold til CO_2 -mængden. Vandprocenten på 16,69 kan tænkes at være lidt for høj og eftertørringen af stoffet ufuldstændig. Små forskelle her kan procentvis give store ændringer i tørstofabet.

Allerede 1957 blev der ved forsøgsstationen i Tylstrup arbejdet med at bestemme CO_2 -udviklingen ved tørring af forskelligt plantemateriale og opstillet en tabel svarende til tabel 3. Der var imidlertid ikke skabt klarhed over, hvorfra CO_2 udviklingen og dermed tørstofabet stammede. Det var påvist, at rene stoffer, som de forskellige kulhydrater, proteinstoffer eller træstof, ikke udviklede CO_2 ved opvarmning til 110° . De termolabile stoffer var vandopløselige. Af kålroer og kartofler blev oparbejdet koncentreret vandudtræk, der ved opvarmning blærede stærkt op og afgav store mængder CO_2 . For at få oplysning om, hvorfra tørstofabet ved opvarmning stam-

Tabel 3. Spaltning af lufttørt plantemateriale ved opvarmning

g stof i arbejde	Tørring u. forsøg		g vægtsv. af stof	pr. 100 g stof i arbejde opsamlet g destillat			optag. g O ₂ bereg.	pct. tør- stof- tab
1	ant.	tim.	temp.	g vand	g CO ₂	myresyre bereg.	8	9
21/2 64 kartofler.	11,25	pct.	vand.	Luftgenst. 85 timer				
50,002	17	73°	1,792	1,894	0,060		0,162	
	44	83°	7,914	7,860	0,098		0,028	
	24	109°	2,196	2,176	0,150		0,130	
sum	85		11,902	11,930	0,308		0,320	
2/3 64 kålroer.	4,07	pct.	vand.	Luftgenst. 118 timer				
50,045	22	56°	1,027	0,965	0,048		÷0,014	
	24	69°	3,403	3,362	0,214		0,174	
	24	80°	4,322	3,934	0,675		0,288	
	24	100°	8,295	7,897	1,201		0,803	
	24	110°	3,731	4,404	0,518		1,191	
sum	118		20,777	20,563	2,656	0,328	2,442	16,8
10/3 64 kålroer.	4,07	pct.	vand.	Luftgenst. ca. 2 timer				
50,015	22	80°	1,884	1,202	0,790		0,108	
+1,951	22	100°	9,687	8,389	1,230		÷0,068	
vand	22	110°	15,211	14,134	1,140		0,062	
sum	66		26,782	23,199	3,159	0,526	0,102	18,8
12/3 64 kålroer.	4,07	pct.	vand					
50,034	39	80°	2,944	1,858	1,108		0,020	
+1,964	44	98°	20,132	18,763	2,818		1,450	
vand								
sum	83		23,076	20,074	3,925	0,546	1,469	18,5
Ved tørr. i vakuum vægtsv. 3,454 g = 26,530 23,528								
Spaltningsforhold = 1 del CO ₂ — 6 dele vand — 0,14 dele myresyre								
16/3 64 kløvergræs.	5,86	pct.	vand					
74,952	16	79°	1,911	1,533	0,491		0,113	
+4,932	23	98°	2,842	2,012	0,889		0,059	
vand	23	110°	9,139	8,610	0,656		0,127	
sum	62		13,892	12,154	2,036	0,211	0,299	5,0
Ved tørr. i vakuum vægtsv. 3,578 = 17,470 15,733								
Spaltningsforhold = 1 del CO ₂ — 8,6 del vand — 0,1 del myresyre								
21/3 64 byg.	16,69	pct.	vand					
75,180	40	82°	2,079	1,996	0,116		0,033	
	22	102°	4,852	4,716	0,101		÷0,035	
	22	111°	6,879	6,760	0,118	0,047	0,000	
sum	84		13,809	13,473	0,335		÷0,002	0,6
Ved tørr. i vakuum vægtsv. 3,510 = 17,319 16,983								
Spaltningsforhold = 1 del CO ₂ — 0,9 del vand								

mede, fik forfatteren tilladelse til at arbejde nogle dage på et laboratorium hos professor *Holger Jørgensen* ved Danmarks tekniske Højskole, København. Inspektør *Marius Jensen* gjorde opmærksom på, at tørstofabet muligvis kunne skyldes Maillard-reaktionen. Et lille forsøg med opvarmning af en opløsning af glucose + glycin viste, at reaktionen meget nøje lignede reaktionen ved opvarmning af konc. vandudtræk af kålroer og kartofler. Der er stor sandsynlighed for, at det virkelig er Maillard-reaktionen, der forårsager det tørstof-tab, der sker, når omtrent tørre plantestoffer står i længere tid ved en temperatur over 80°. For at undersøge om det muligvis skyldtes iltning, at der dannedes CO₂ ved opvarmning af plantestoffer, blev der ved undersøgelserne 1957 ledet iltfri kvælstof gennem kolben med stoffet, der opvarmedes, men CO₂-dannelsen blev ikke formindsket af den grund. Derimod så det ud til, at vanddannelsen blev mindre.

Maillard-reaktionen

Opvarmes monosaccharider sammen med aminosyrer og lidt vand, sker der en brunfarvning og afgives CO₂ + vand. På den måde kan over 1/3 af tørstoffet forsvinde. Maillard-reaktionen eller melanoidin-reaktionen har længe været kendt. *Maillard* (1912-1917) blandede 1 del glycin + 4 dele glucose + 3-4 dele vand og fandt, at der skete en brunfarvning ved opvarmning til 34° til 150°, ganske svagt ved lav temperatur og stærkt ved høj temperatur. *Ellis* (1959) har samlet en oversigt over forskningsresultaterne angående Maillard-reaktionen indtil 1959. Mange forskere har arbejdet med disse problemer. *Ellis* mener dog, at meget endnu er uklart. Efter *Ellis* gives her en kort oversigt over, hvad de forskellige forskere har fundet. Dog tages der også hensyn til egne undersøgelser. Følgende kan siges: Monosaccharider + aminosyre + vand går i forbindelse med hinanden og danner ubestandige stoffer, som her betegnes »sukker-aminosyre-kondensater«. Reaktionen er reversibel ved 25° og vil indstille sig på en ligevægt med hensyn til: monosaccharider + aminosyre $\rightleftharpoons$ sukker-aminosyre-kondensater. Ligevægten påvirkes af vandindholdet i systemet. Et forøget vandindhold ud over 10 pct. vil formindske mængden

af sukker-aminosyre-kondensater. Der kræves en vis vandmængde for at Maillard-reaktionen kan komme i gang. Det ser ud til, at ca. 10 pct. vand giver den kraftigste reaktion, men da der dannes vand ved Maillard-reaktionen, kan reaktionen komme i gang ved et ret lavt vandindhold.

Temperaturens indvirkning

Reaktionshastigheden stiger meget stærkt med temperaturen (tabel 3). Den mørkfarvning der blev opnået på 2 timer ved 100°, tog det 250 timer at opnå ved 56,5°.

Virkningen af pH

Glucose-glycin forbindelser dannet ved 25° spaltes igen ved syretilsætning. Foregår reaktionen ved 35°, er det ikke muligt igen at få alt stoffet spaltet til glucose + glycin. Reagerer aldoser + aminosyre med hinanden, bliver pH mindre, og formindskelsen er et godt mål for reaktionens størrelse. Ved pH under 6 hæmmes Maillard-reaktionen. Under tørring hæmmes CO₂-udviklingen ved syretilsætning og fremmes ved basetilsætning. Ved pH 5,25 er brunfarvningen ca. 3 gange så stor som ved pH 3,2 og ved pH 3,2 er der ikke tab af kvælstof. Nyere studier med ¹⁴C mærket glucose har vist, at ikke alt det dannede CO₂ stammer fra aminosyrer, som Maillard mente. Maillard-reaktionen ved pH 6-9 har mest interesse.

Kobber og jern skulle fremme Maillard-reaktionen og tin hæmme, men forskerne er ikke enige om metallernes virkning. Svovldioxyd synes at virke stærkest hæmmende på brunfarvningen.

Ellis (1959) slutter sit referat af talrige forskeres arbejder om Maillard-reaktionen med nogle betragtninger, som kan sammenfattes i følgende: Der er to hovedteorier. Den første antager, at der dannes glycosylaminer, som gennemgår Amadori-omgrupperingen. Optimumbetingelserne for Maillard-reaktionen er: Temmelig lavt vandindhold, pH 7-10 og høj temperatur. Svag reaktion forekommer ved afvigende forhold, men ikke uden fugtighed.

En anden og nyere teori antager, at brunfarvningen og Maillard-reaktionen er to forskellige processer. Brunfarvningen fremkaldes af brintionernes virkning på sukker over et stort pH-område.

de, medens Maillard-reaktionen kun forekommer under alkaliske forhold. Med alkalisk stødpude kom brunfarvning og Maillard-reaktionen samtidigt. Angående Maillard-reaktionen kan der ikke generaliseres på grund af de forskellige aminosyrrers egenskaber, og fordi ganske små mængder metalion kan have stor virkning. Ellis siger til slut, at på trods af det enorme arbejde, der allerede er udført, er der stadig brug for forskning angående Maillard-reaktionen. Hertil kan føjes, at det må undre, at ingen af de talrige forskere, der har arbejdet med Maillard-reaktionen, synes at have sat den i forbindelse med vanskeligheden ved at udføre en nøjagtig tørstofbestemmelse i plantestoffer.

	C	H	N
Humussyre fra jord	56,0	5,1	5,36
Humussyre fra tørv	50,8	5,4	2,37
Glycin-glucose melanoidin	53,1	5,2	5,46

Ved tørstofbestemmelser er det den første fase af Maillard-reaktionen, der har interesse. Der opvarmes ikke så stærkt, at der dannes større mængder af melanoidin, eftersom tørstoffabet søges begrænset så meget som muligt.

Undersøgelser ved Tylstrup 1959

3 g af glucose-glycin blandinger opløstes i 5 g vand. Mængdeforholdet mellem glucose og glycin varieres stærkt. I rubrik 2, tabel 4, er forholdet anført. Der tørredes først 14 timer ved 88° og efter vejning 20 timer ved 110°.

Tabel 4. Tørring af forskellige blandinger af glucose + glycin

Prøve nr.	Mol. glucose	g glycin i arb. pr.	Vægt af 100 g tørstof efter tørring		Tab af tørstof i pct. af glucose	Tab af tørstof i pct. af glycin
	mol. glycin	100 g glucose	14 tim. ved 88°	20 tim. ved 110°		
1	2	3	4	5	6	7
1	1/1	41,6	75,74	65,20	49,41	118,77
2	1/2	83,2	81,18	72,17	50,91	61,20
3	4/3	31,2	74,17	65,48	45,47	145,10
4	2/1	20,8	73,40	66,16	40,88	196,54
5	4/1	10,4	79,66	69,35	33,78	324,81
6	8/1	5,2	90,62	74,91	26,35	506,73
7	16/1	2,6	97,47	84,31	16,02	616,15
8	32/1	1,3	103,31	90,90	6,37	490,00
9	1/0	0,0	105,76	100,50		
10	0/1		113,20	100,60		

Dannelse af melanoidin

Opvarmes sukker-aminosyre-kondensater brunfarves stoffet og afgiver CO₂ + vand, indtil der er dannet melanoidin. Processen tager ret lang tid. I begyndelsen er de brune stoffer letopløselige i vand, men lidt efter lidt bliver de uopløselige.

Enders og Theis (1938) har undersøgt melanoidin og som empirisk formel angivet: C₆₇ H₇₆ O₃₂ N₅ (Molekylvægt 1462).

Også andre forskere har undersøgt melanoidin, sammensætningen har varieret, idet den i nogen grad afhænger af temperatur, tid og fugtighed. Melanoidin ligner meget i indhold og egenskaber humussyre og en elementæranalyse viste efter Du Toit og Page (1932)

For prøve 1 er der afvejet 2,119 g glucose + 0,881 g glycin, d.v.s. lige mange molekyler af de to stoffer. Prøve 1-7 blev tørret 14 timer ved 88°, derved blev det tilsatte vand og desuden op til ca. 1/4 af tørstoffet borttørret. Ved en efterfølgende tørring 20 timer ved 110° ser tørringen ud til at være omtrent fuldstændig. Både for ren glucose og glycin (prøve 9 og 10) er der dog blevet ca. 0,5 pct. vand tilbage i stoffet. Formodentlig har der også været et lignende vandindhold i prøve 1-8 efter tørringen.

Tallene i tabel 4 tyder på, at glycin virker som katalysator ved glucosens nedbrydning under opvarmning. For prøve 7 er tørstoffabet over 6 gange så stort, som glycinindholdet. Den største del

af tørstof-tabet må derfor være sket fra glucosen. Maillard antog, at CO_2 -dannelsen ved Maillard-reaktionen stammede fra aminosyrens karboksyl-gruppe. Nyere undersøgelser med ^{14}C mærket glucose har som omtalt vist, at størsteparten af den dannede CO_2 stammer fra glucosen. Spaltningen sker imidlertid ikke fra glucose eller glycin, men fra sukker-aminosyre-kondensater. En bestemmelse af pct. N i glucose-glycinblandingen efter opvarmning til 110° viste, at der ikke var sket tab af N, selv om opvarmningen havde forårsaget et tørstof-tab på 30-40 pct.

Glycin virker ikke som en ægte katalysator, idet den går ind i slutprodukterne, hvorved der dannes melanoidin. Efter opvarmningen vist i tabel 4, var ca. 2/3 af glycinets N blevet uopløseligt, medens 1/3 kunne opløses i vand. Ved til prøve 2 at tilsætte 1 g glucose + 2 g vand og opvarme 6 timer til 110° , forekom der et tørstof-tab, der svarede til 50,2 pct. af den tilsatte glucose. For prøve 4 fandtes tilsvarende et tørstof-tab på 10,6 pct. I opløsninger med et lille indhold af aminosyrer i forhold til monosaccharider, er det tænkeligt, at aminosyrerne ved spaltning af sukker-aminosyre-kondensater gendannes og går i forbindelse med nye molekyler af monosaccharider.

Der findes talrige monosaccharider og aminosyrer. Derfor har sukker-aminosyre-kondensater meget varierende sammensætning, og det kan ikke forventes, at Maillard-reaktionen forløber helt ens for de forskellige stoffer.

I plantestoffer findes så at sige altid sukker-aminosyre-kondensater, men i meget varierende mængder. Tørstof-tab forårsaget af Maillard-reaktionen vil ved tørring under 50° sædvanligt være uden betydning. Tørres derimod ved 80° , vil der i nogle plantestoffer ske et ikke helt ringe tørstof-tab på grund af Maillard-reaktionen, medens det for andre stoffer ikke vil have betydning.

Iltning

Ikke alene Maillard-reaktionen, men også iltning kan forårsage tørstof-tab i plantestoffer. Maillard-reaktionen forårsager tørstof-tab ved ret høj temperatur og lille vandindhold, medens iltningen standses ved godt 60° , og når vandindholdet bliver for ringe. Det er særligt i friskt græs og lignende

plantestoffer, der kan ske en iltning. Er der gunstige forhold for en iltning, kan der regnes med et tørstof-tab på 0,2 pct. af tørstoffet pr. time. Der er tidligere offentliggjort nogle undersøgelser, *Nissen* (1963), som viser, at der ikke forekom iltning ved 90° eller i vakuum og heller ikke, når vandindholdet i kløvergræs kun var 36 pct.

Undersøgelserne er blevet fortsat. I en 1 liter erlenmeyerkolbe blev ca. 400 g kløvergræs pakket fast. Kolben var forsynet med gummiprop med to gennemboringer, så der kunne ledes en svag strøm af luft befriet for vand og CO_2 gennem kolben. Derved optog luften vand og CO_2 fra kløvergræsset. Det optagne vand blev fortættet i en kolbe, der stod i kuldeblanding, og den sidste rest i rør med tørt alumina. CO_2 blev opsugt i flaske med natronkalk, og det derved dannede vand i rør med tørt alumina.

I tabel 5 er anført resultater fra 4 forsøg. Forsøgene har været fra 50 til 106 timer, og temperaturen er varieret stærkt. Ved alle vejninger, undtagen for tørring ved 108° i forsøg 4, har der været en vægtforøgelse. Dette kan vanskeligt tydes på anden måde, end at kløvergræsset har optaget ilt fra den gennemstrømmende luft og dannet CO_2 deraf. I rubrik 7 er vægtforøgelsen anført som O_2 . I rubrik 8 er omregnet til CO_2 ved at gange med 1,375.

I de 4 forsøg er i alt målt en CO_2 udvikling på 50,855 g. Beregnes CO_2 -dannelsen ud fra den fundne vægtforøgelse, fås 49,173 g CO_2 . Dette tyder på, at den optagne ilt har dannet CO_2 . Det må formodes, at det, som ved Maillard-reaktionen, er monosacchariderne der omsættes og vi har: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 = 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$.

For forsøget med tørret kløvergræs 16/3 anført i tabel 3 ses, at der trods en kraftig CO_2 udvikling kun har været en ringe vægtforøgelse. Maillard-reaktionen kræver nemlig ikke ilt, men ved stadig luftgennemstrømning kan der dog finde en vægtforøgelse sted. Det kan være vanskeligt at afgøre, hvad der er iltning, og hvad der er Maillard-reaktion. De to reaktioner foregår ved forskelligt temperaturinterval.

For enkeltprøver stemmer fundet og beregnet CO_2 i tabel 5 ikke særligt godt sammen. Det må formodes, at en del af den dannede CO_2 tilbage-

Tabel 5. Iltning af kløvergræs

Behandling tim.	temp.	Svind af indvejet stof g	Udviklet ved behandling g			Beregnet g		Pct. tørstof i pr. time
			vand	CO ₂	ialt	O ₂	CO ₂	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. 28/8 62 skåret kløvergræs. 395 g, pct. tørstof ca. 19 = ca. 75 g tørstof i arbejde								
5	38	1,73	0,347	1,870	2,217	0,487	0,670	0,34
15	38	1,25	0,481	2,882	3,363	2,113	2,905	0,17
8	38	1,07	0,575	1,786	2,361	1,291	1,775	0,20
16	38	1,94	0,838	3,458	4,296	2,356	3,240	0,20
6	38	0,91	0,640	1,603	2,243	1,333	1,833	0,25
sum 50	38	6,90	2,881	11,599	14,480	7,580	10,423	0,211
2. 11/9 62 ikke skåret kløvergræs. 352 g, 18,1 pct. tørstof = 63,7 g tørstof i arbejde								
6	36	1,45	0,668	1,900	2,568	1,118	1,537	0,34
16	36	1,95	0,943	3,406	4,349	2,399	3,299	0,24
7	36	1,10	0,670	1,624	2,294	1,194	1,642	0,25
16	36	1,56	1,107	2,877	3,984	2,424	3,333	0,19
7	36	0,97	0,778	1,433	2,211	1,241	1,706	0,21
17	36	1,64	1,085	2,953	4,038	2,398	3,297	0,18
7	36	0,70	0,516	1,507	2,023	1,323	1,819	0,24
16	36	1,69	1,219	3,439	4,658	2,968	4,081	0,22
sum 92	36	11,06	6,986	19,139	26,125	15,065	20,714	0,233
3. 19/9 62 skåret kløvergræs. 404 g, 18,3 pct. tørstof = 73,9 g tørstof i arbejde								
	stuet.							
2	24-28	0,28	0,087	0,435	0,522	0,242	0,333	0,20
16	20-26	1,78	0,607	3,366	3,973	2,193	3,015	0,19
7	21-24	0,75	0,334	1,363	1,697	0,947	1,302	0,18
16	20-24	1,27	0,457	1,881	2,338	1,068	1,469	0,11
7	20-24	0,45	0,313	0,889	1,202	0,752	1,034	0,12
17	20-24	0,73	0,375	1,290	1,665	0,935	1,286	0,07
sum 65		5,26	2,173	9,224	11,397	6,137	8,439	0,131
4. 24/9 62 skåret kløvergræs. 407 g, 20,6 pct. tørstof = 83,8 g tørstof i arbejde								
2	55	0,69	0,272	0,651	0,923	0,233	0,320	0,27
16	58	2,96	2,760	1,030	3,790	0,830	1,141	0,05
7	58	3,19	3,016	0,821	3,837	0,647	0,890	0,10
17	58	3,00	2,138	2,833	4,971	1,971	2,710	0,14
2	58	0,51	0,315	0,463	0,778	0,268	0,369	0,19
17	58	3,88	3,153	3,071	6,224	2,344	3,223	0,15
5	79	3,93	3,414	0,717	4,131	0,201	0,276	0,11
17	90	23,03	22,890	0,640	23,530	0,500	0,688	0,03
6	100	3,65	3,486	0,288	3,774	0,124	0,171	0,04
17	108	30,68	30,162	0,379	30,541	÷0,139	÷0,191	0,02
sum 106		75,52	71,606	10,893	82,499	6,979	9,597	0,084
sum ialt								
313		98,74	83,646	50,855	134,501	35,761	49,173	

holdes i kløvergræsset, og kun ved langvarige undersøgelser kan de virkelige værdier findes. Det store tørstoftab de første timer efter at kløvergræsset er slået, skyldes sandsynligvis, at de levende celler ånder. Senere kommer der også bakterievirksomhed. Det er ikke let at afgøre, hvor meget der skyldes det ene eller det andet.

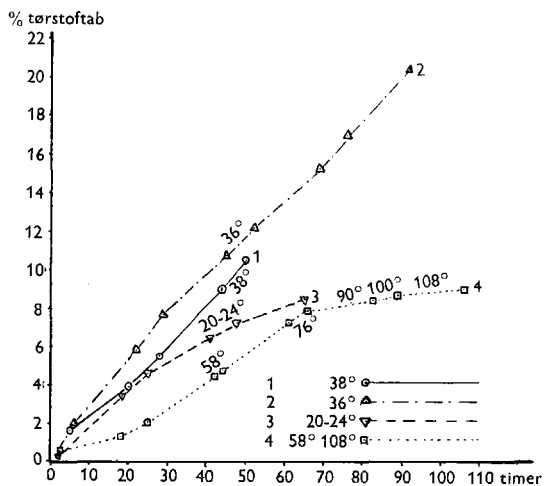


Fig. 4. Pct. tørstofstab ved iltning af kløvergræs

I figur 4 er tørstoftabet vist grafisk. Kurven for 36° ligger højest med et jævnt tørstoftab pr. time på godt 0,2 pct., der går helt op til et tab på 20 pct. Kurven ved 58-108° ligger lavest og viser kun ringe stigning fra 2 til 18 timer. Derefter kommer en noget større stigning fra 18 til 60 timer ved 58°, som sandsynligvis skyldes bakterievirksomhed, og efter at temperaturen er sat op til 90° kun ringe stigning. Det må formodes, at 90° er for meget for bakterierne. Alle 4 kurver begynder med ret stærk stigning, som antagelig skyldes, at kløvergræsset indeholder en del fri CO_2 , når forsøget påbegyndes.

Den påviste iltning er en alvorlig fejlkilde for tørstofbestemmelser af grøntafgrøder. Anbringes den grønne prøve i en sæk, som omhyggeligt vejes og derefter står til næste dag (20 timer), før den igen vejes og behandles til tørstofbestemmelse, må der regnes med, at ca. 4 pct. af tørstoffet er omdannet til CO_2 . For grøntafgrøder til ensilering må der også regnes med ca. 0,2 pct. tab af tørstof pr. ti-

mes henliggen, før der ensileres. Ved ensileringen gælder det om at få luften fordrevet fra ensilagen så hurtigt og så effektivt som muligt.

Tørstofbestemmelse i grøntafgrøder

Der kan ikke alene ske et tørstoftab før prøverne til tørstofanalysen i grøntafgrøder afvejes, men også efter at de er afvejet. Afvejes 200 g eller mere i en bakke, vil det tage ret lang tid før materialet helt igennem er opvarmet til over 60°. Der vil derfor foregå en ret kraftig iltning i grøntmassen, som giver sig til kende ved brunfarvning. Den bliver kraftigst, når tørreovnen er fyldt stærkt med prøver og luftcirkulationen er for ringe. Afvejes kun 50-100 g i hver bakke, og er der kun få bakker i ovnen, forbedres tørrebetingelserne, og græssets grønne farve kan bibeholdes under tørringen.

Ønskes der udført en nøjagtig tørstofbestemmelse i grøntafgrøder, er det nødvendigt at tørre i vakuum. I vakuum sker intet tab ved iltning, og tørres der ved under 50°, sker der heller intet tab ved Maillard-reaktionen. Skal afgrøder med et stort vandindhold tørres i vakuum, kan det afgivne vand vanskeligt opsuges i tørremidler. Under den første fase af tørringen vil det være formålstjenligt at kondensere vandet i et kølesystem.

Tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri

Undersøgelser ved Tylstrup har vist, at der kan udføres nøjagtige tørstofbestemmelser ved hjælp af pyknometri. Fra videnskabelig side er det med urette hævdet, at der for tørstofbestemmelser ved pyknometri ikke kan forventes nøjagtige resultater. Særlig for vandopløselige stoffer skulle nøjagtigheden blive ringe på grund af, at den fortrængte væskes vægt ikke skulle kunne beregnes, og at der for nogle stoffer finder en kontraktion sted. Tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri er derfor undersøgt ret nøje ved Tylstrup.

I litteraturen findes kun få oplysninger angående tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri. Løvtrup (1951) har under »Carlsberg Mikrometoder« omtalt dykkermetoden. Han angiver, at der på grundlag af stoffernes forskellige massefylde kan opnås meget nøjagtige resultater.

Symboler, der er benyttet

M = massen i g af stof i arbejde (oftest vandholdigt)

m_t = g vandfrit stof i M

$\%m_t$ = g vandfrit stof i 100 g M

m_v = vægt i vand i g af M

$\%m_v$ = vægt i vand i g af 100 g M

d = massefylden af m_t målt ud fra det luftbefrie-
de stofs vandfortrængning

d_v = massefylden af vand

$K = \frac{\%m_t}{\%m_v} = \frac{d}{d-d_v}$ = tørstoffaktoren

V = volumen af m_t i cm^3 , målt ved vandfor-
trængning.

Metodik

1. Før der bestemmes vægt i vand, skal stoffet ved kogning i vakuum befries fuldstændig for luft.
2. For væsker med kontraktion skal pyknometerindholdet blandes.
3. Temperaturen skal indstilles nøjagtigt.
4. Der må ikke spildes andet end vand, når prop sættes i pyknometret.

Ved bestemmelse af vægt i vand for lufttørt finmalet stof afvejes 3-5 g i 50 ml pyknometer, stoffet gennemfugtes og sættes under vakuum. Største parten af luftindholdet skal helst evakueres før stoffet bliver rigtigt vådt. Derefter tilsættes mere vand. Når vandet under vakuum i stedet for at skumme stødkoger, kan der regnes med, at luften er uddrevet. Pyknometret fyldes forsigtigt op med udkogt destilleret vand, således at der til slut ikke sker nogen blanding med stoffet. Proppen kan så sættes i, uden at der spildes stof. Proppen skal så vidt muligt sættes ens fast hver gang.

Stoffer, hvis vandindhold kan bestemmes ved hjælp af pyknometri, kan deles i 4 grupper.

1. Kompakt fast stof uopløseligt i vand.
2. Porøst stof uopløseligt i vand.
3. Vandopløseligt stof uden kontraktion.
4. Vandopløseligt stof med kontraktion.

Blandt plantestofferne er det muligt at finde stof af alle 4 grupper.

Det er vanskeligt at fjerne luften fra porøst stof, som træ, halm og lignende. For sådanne stoffer er

en stærk findeling nødvendig. Massefylden af fint malet halm bestemtes ved Tylstrup til ca. 1,6.

Undersøgelser ved Tylstrup har, som det senere vil blive omtalt, vist, at opkvældning af stivelse (sagogyryn) ikke påvirker vægt i vand.

For stoffer med kontraktion forandres vægt i vand med koncentrationen. Derfor er det for sådanne stoffer nødvendigt med indstilling til en konstant koncentration (6%) eller korrigering for afvigende koncentration, såfremt tørstofindhold skal bestemmes ud fra vægt i vand.

Ønskes vægt i vand (m_v) ved hjælp af pyknometri bestemt i stofprøven M , må der arbejdes med 2 vejetal foruden vægt i g af M :

- a. Vægt i g af M .
 - b. Vægt i g af vandfyldt pyknometer, hvori M er nedsænket.
 - c. Vægt i g af vandfyldt pyknometer (bestemmes ikke hver gang).
- m_v findes ud fra b-c = m_v .

For den videre beregning er det kun differensen m_v , der har betydning. Taravægten af det vandfyldte pyknometer kan betragtes som taravægten af et almindeligt vejglas, hvori der tørres.

Ved vejning i luft har pyknometer en med lufttrykket vekslende opdrift. Ved nøjagtige bestemmelser skal det vandfyldte pyknometers taravægt derfor korrigeres for vekslende lufttryk. Ved vejning frit i luften bliver det vandfyldte pyknometers taravægt bestemt ca. 1% for lavt. Derimod bliver vægt i vand af M ikke påvirket af luftens opdrift.

Det teoretiske grundlag for pyknometri

Er m_v bestemt for M , kan m_t beregnes ud fra:

$$m_t = m_v \cdot \frac{d}{d-d_v}, \text{ såfremt værdien af massefyl-}$$

den d er kendt for tørstoffet m_t .

Massefylden er ikke en veldefineret størrelse. Værdien varierer med temperaturen og for en del opløselige stoffer også med koncentrationen. Anføres der ikke andet, vil det være praktisk, at angivelsen af værdien af d gælder for 20° og 6 pct. opløsning. Skal d benyttes til bestemmelse af tørstof ud fra vægt i vand af M , er det nødvendigt,

at volumen af m_t er bestemt ved vandfortrængning. m_t vil ofte fortrænge et større volumen af f.eks. alkohol eller olie end af vand, fordi vandet har små molekyler, der bedre kan udfylde alle huller mellem stoffets molekyler, end de langt større molekyler af f.eks. olie. I håndbøger ses massefylden af forskellige stoffer angivet med værdier, der afviger en del fra det, der findes ud fra stoffets vandfortrængning. Ved tørstofbestemmelse ud fra et stofs vægt i vand, er grundprincippet, at vandet i stoffet har nøjagtig samme massefylde, som det vand stoffet fortrænger fra pyknometeret. Derfor er det nødvendigt, at d bestemmes ud fra vandfortrængningen af m_t . Det er kun tørstoffets rumfang, målt ud fra dets evne til at fortrænge vand, der i denne forbindelse har interesse. Den nøjagtige vægt af 1 cm³ vand (d_v) kan aflæses i tabeller. Alle måleenheder i metersystemet forbindes med hinanden gennem vægt og volumen af vand. 1 kg vand ved 4° har et volumen på 1 dm³ og kanten på 1 dm³ er 1/10 m. Tørstoffets volumen kan derfor ikke måles overfor noget, der er bedre egnet end vand. På grund af, at måleteknikken overfor vand er blevet forbedret, passer målene desværre ikke mere helt med de vedtagne standardenheder.

Undersøgelser ved Tylstrup har vist (se side 105, 106 og tabel 9), at m_v , ved konstante betingelser for V , ikke påvirkes af vandindholdet i M . Derfor kan følgende to sætninger opstilles:

1. Et stofs vægt i vand påvirkes ikke af vandindholdet i stoffet.
2. Vægt i vand (m_v) af en prøve (M) bestemmes af massefylden og mængden af vandfrit stof i prøven (m_t) og står i et ligefremt forhold (K) til mængden.

Det grundlæggende princip for tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri er, at vandet i stoffet ikke fortrænger vand fra et vandfyldt pyknometer. Vandmolekylerne i stoffet og i pyknometeret er helt ens. Fordi nogle vandmolekyler i stoffet erstatter nogle andre vandmolekyler, er der ikke tale om, at der er fortrængt vand fra et pyknometer.

Kartoffeltørstof har efter Nissen (1954) en massefylde (d) på ca. 1,669. Afvejes der i et pyknometer 1,669 g kartoffeltørstof ($m_t = d$), som befries

for luft, hvorefter pyknometeret fyldes med vand, vil kartoffeltørstoffet fortrænge nøjagtigt 1 cm³ vand (d_v) fra det vandfyldte pyknometer. Om kartoflerne indeholder 80, 10 eller 0 pct. vand, når de afvejes er ligegyldigt, såfremt der tages hensyn til vandindholdet ved afvejningen. Vægtforøgelsen for pyknometeret (m_v) bliver:

$$1,669 \text{ g} \div 0,9983 = 0,6707 = m_v$$

Er volumen af m_t ikke 1, men V har vi:

$$(d - d_v) \cdot V = m_v.$$

Med konstant værdi af d er der et konstant forhold mellem det vandfri stof i M (m_t) og vægt i vand af M (m_v) og vi har: $\frac{m_t}{m_v} = K$ og $m_t = m_v \cdot K$.

Er d for det vandfri stof i M kendt, kan K findes af: $K = \frac{d}{d - d_v}$. Er d ubekendt, må K bestemmes

ud fra $\frac{m_t}{m_v} = K$. Det er ikke vanskeligt at bestemme m_v . Derimod er det for plantestoffer vanskeligt at bestemme den nøjagtige værdi af m_t , da de ofte binder vand meget stærkt og ved opvarmning til over 50-60° nedbrydes ved Maillard-reaktionen. Tørres der ved under 50°, kan Maillard-reaktionen undgås og sker sluttørningen i vakuum ved under 80°, vil et lille tørstoftab svare nøjagtigt til

en formindskelse af vægt i vand. Forholdet $\frac{m_t}{m_v} =$

K bliver ikke af den grund ændret. Ved at tørre så stærkt, at der sker et lille tørstof-tab, er der mulighed for at fordrybe så at sige alt vand fra det plantestof, der tørres. Kun i samme forhold, som alt vand er tørret ud af et stof, kan K for pågældende

stof bestemmes nøjagtigt ud fra $\frac{m_t}{m_v} = K$.

Indvendinger mod tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri

For opløselige stoffer er det blevet påstået, at den nøjagtige vægt af den fortrængte væske ikke kan findes. Benyttes den rigtige teknik, fortrænges der kun vand fra pyknometeret, og vi har: $m_t = m_v \cdot$

$\frac{d}{d - d_v}$. Værdien af den fortrængte væske kendes

ganske nøje. Der påstås også, at der ikke kan findes en tilstrækkelig sikker værdi for d . d varierer

med temperaturen og for stoffer med kontraktion også med opløsningens koncentration. Desuden fås forskellige værdier for d , alt efter hvorledes rumfanget af tørstoffet måles. m_t fortrænger større rumfang af olie eller alkohol end af vand. Da der går ud fra, at vandet i stoffet, og det vand stoffet fortrænger fra pyknometeret er helt ens, er det nødvendigt, at massefylden af tørstoffet bestemmes over for vand. Med hensyn til temperatur er det indlysende, at d og m_v skal bestemmes ved nøjagtig samme temperatur. For stoffer med kontraktion gælder det samme for opløsningens koncentration. Der kan som standard benyttes 20° og 6 pct. Ved bestemmelse af m_v kan der korrigeres for afvigelser både for temperatur og koncentration.

NaCl har stærk kontraktion. Alligevel påvirker vandindholdet i NaCl ikke stoffets vægt i vand. Afvejes 3 g vandfrit NaCl i et 50 ml pyknometer, fås samme vægt i vand, enten NaCl ved afvejningen er helt vandfrit, eller det indeholder 25 eller 50 pct. vand, såfremt der ved afvejningen tages hensyn til vandindholdet. Vandindholdet i NaCl påvirker slet ikke dets vægt i vand, medens koncentrationen af NaCl påvirker vægt i vand stærkt.

Hidtil har det for plantestoffer ikke været muligt at finde tilfælde, hvor stoffets vandindhold påvirkede stoffets vægt i vand.

Undersøgelser ved Tylstrup

Foran er anført, at vægten af et vandfyldt pyknometer, ved nedsænkning af en prøve stof i pyknometeret, vil forøges med vægten af det vandfri stof i prøven og formindskes med vægten af det fortrængte vand: $m_v = (d - d_v) \cdot V$.

Da det ikke er umiddelbart indlysende, at volumen V af m_t , målt ved vandfortrængning, ikke ændres ved, at stoffer kvælder op eller opløses, blev der udført en undersøgelse med sagogryn.

3 g vandfri sagogryn afvejedes i pyknometre. Forsøgsled 1 tilsattes 30 ml koldt vand, medens forsøgsled 2 tilsattes 30 ml 90-100° varmt vand. Luften blev evakueret og vægt i vand bestemtes.

Massefylden bestemtes ud fra: $d = \frac{m_t \cdot d_v}{m_t - m_v}$.

For forsøgsled 1 fandtes: $d = 1,641$, for forsøgsled 2: $d = 1,649$. For rent kartoffelmel er fundet:

$d = 1,653$. I forsøgsled 1 var sagogrynene kvældet stærkt op, medens de i forsøgsled 2 var omtrent opløst og dannede en tyk grød. Da sagogrynene ikke blev findelt, var det vanskeligt at befri den helt for luft, og dette er formodentlig grunden til, at der er fundet lidt lave værdier for d i forsøgsled 1. Undersøgelsen synes at vise, at stivelsens vandfortrængningsevne og dermed værdi af d , ikke påvirkes af om stivelsen er uopløselig, opkvældet eller helt opløst. Det er ikke påvist, at d for stivelse ændres med opløsningens koncentration.

For kålroer er koncentrationens indvirkning undersøgt i 50 ml pyknometre. Af 4 forskellige mængder af tørret stof blev så meget som muligt

opløst og K bestemtes af: $K = \frac{m_t}{m_v}$.

Ud fra 0,467 g m_t fandtes: $K = 2,499$

- - 1,404 g - - : - = 2,486

- - 2,812 g - - : - = 2,488

- - 4,681 g - - : - = 2,494

Variationen i K må antages at stamme fra tilfældige fejl. Der er ikke påvist kontraktion, og det samme må antages at gælde for de fleste plantestoffer. Det bør dog tilstræbes, at der ved bestemmelse af både K og m_v også for plantestoffer arbejdes med ca. 6 pct. vandfrit stof i pyknometrene.

Undersøgelser over opløselige stoffers vægt i vand

Selv om det af det foranstående fremgår, at det ikke er vanskeligt at udføre en nøjagtig tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri også for opløselige stoffer, blev der foretaget en undersøgelse over glucosens vægt i vand.

Af omtrent vandfri glucose afvejedes i 50 ml pyknometre 3,0000 g. Vægt i vand (m_v) bestemtes til: 1,1461 g. Glucosens rumfang målt ud fra vandfortrængning findes af:

$$V = \frac{m_t - m_v}{d_v} = \frac{3,0000 - 1,1461}{0,9983} = 1,85705.$$

Glucosens massefylde findes af:

$$d = \frac{m_t}{V} = \frac{3,0000}{1,85705} = 1,6155.$$

Samles de to formler har vi:

$$d = \frac{m_t \cdot d_v}{m_t - m_v} = \frac{3,0000 \cdot 0,9983}{3,0000 - 1,1461} = 1,6155.$$

1 cm³ opløst glucose vejer altså 1,6155 g beregnet ud fra glucosens vægt i vand, som er betinget af glucosens vandfortrængning. Efter de to vejetal er forholdet mellem glucosens vægt i luft og vægt i vand:

$$K = \frac{m_t}{m_v} = \frac{3,0000}{1,1461} = 2,6176.$$

Afvejes 1,6155 g af glucosen i et pyknometer, der vejes vandfyldt, får pyknometeret en vægtforøgelse på 1,6155 g og en vægtformindskelse på 0,9983. For et rumfang på 1 cm³ af m_t har vi:

$$K = \frac{d}{d - d_v} = \frac{1,6155}{1,6155 - 0,9983} = 2,6176.$$

Indsættes i formlen:

$$K = \frac{d}{d - d_v}$$

i stedet for d størrelsen

$$\frac{m_t \cdot d_v}{m_t - m_v}$$

får vi:

$$K = \frac{m_t \cdot d_v}{m_t - m_v} : \frac{m_t \cdot d_v}{m_t - m_v} - d_v,$$

der kan forkortes til:

$$K = \frac{m_t}{m_v} = \frac{3,0000}{1,1461} = 2,6176.$$

Er m_t og m_v nøjagtige vejetal, påvirkes K ikke af væskens massefylde, som ved udregningen bortforkortes. Tørstofindholdet i glucosen bestemtes til at være 99,9 pct. K for vandfri glucose er:

$$K = 2,6176 \cdot \frac{99,9}{100} = 2,6150.$$

Undersøgelsen viser, at der for glucose kan udføres nøjagtige tørstofbestemmelser ud fra stoffets vægt i vand.

Vægt i vand af opløsninger med kontraktion

Da det rent teoretisk er vanskeligt at overbevise om, at der for stoffer med kontraktion kan udføres nøjagtige tørstofbestemmelser ved hjælp af pyknometri, er der foretaget nogle undersøgelser over vægt i vand af NaCl ved forskellige koncentrationer. NaCl valgtes fordi der for dette stof findes en del massefyldetabeller. Ved Tylstrup blev der for 16 prøver opløst NaCl bestemt vægt i vand i 50 ml pyknometre og resultatet er anført i tabel 6. Mængden af vandfrit NaCl i arbejde (m_t) er bestemt nøjagtigt, da der ikke for NaCl sker tørstoftab, selv om der tørres ved en ret høj temperatur.

Tabel 6. Vægt i vand af NaCl ved forskellige koncentrationer i 50 ml pyknometre

	g mol. pr. liter (58,5)	Direkte vejetal		K og m_t beregnet ud fra formel			
		m_t g NaCl	m_v vægt i vand	$K = \frac{m_t}{m_v}$	$K = 1,415 + 0,017 \cdot m_v$	$m_t = m_v \cdot K$ g NaCl	% afvigelse for m_t
1	0,084	0,2465	0,1746	1,4118	1,4180	0,2475	0,406
2	0,171	0,4989	0,3508	1,4222	1,4210	0,4985	÷0,080
3	0,350	1,0227	0,7211	1,4182	1,4273	1,0292	0,636
4	0,694	2,0314	1,4130	1,4377	1,4390	2,0333	0,094
5	1,039	3,0384	2,0869	1,4559	1,4505	3,0270	÷0,375
6	1,374	4,0198	2,7416	1,4662	1,4616	4,0071	÷0,316
7	1,720	5,0306	3,4088	1,4758	1,4729	5,0208	÷0,195
8	2,070	6,0547	4,0672	1,4881	1,4841	6,0362	÷0,307
9	2,399	7,0165	4,6790	1,4996	1,4945	6,9928	÷0,338
10	2,739	8,0115	5,3119	1,5082	1,5053	7,9960	÷0,193
11	3,091	9,0411	5,9627	1,5163	1,5164	9,0418	0,008
12	3,431	10,0371	6,5805	1,5253	1,5269	10,0478	0,107
13	3,779	11,0527	7,2032	1,5344	1,5375	11,0749	0,201
14	4,128	12,0747	7,8257	1,5430	1,5480	12,1147	0,331
15	4,441	12,9910	8,3627	1,5534	1,5572	13,0224	0,241
16	4,794	14,0212	8,9948	1,5588	1,5679	14,1029	0,583

Tabel 6 viser, at værdien af tørstoffaktoren K forøges med stigende koncentration, og da vi har: $m_t - V \cdot d_v = m_v$, er det et forøget rumfang pr. g NaCl, med stigende koncentration, der forårsager den stigende værdi for K . I 0,08 mol. opl. er volumen af 1 g NaCl 0,29 ml, medens det i 4,79 mol. opl. har et volumen på 0,36 ml.

Måske kan forholdet forklares på følgende måde: Med stigende koncentration af NaCl i opløsning påvirker ionerne hinanden mere og mere og danner ligesom et gitter. Det er nærliggende at antage, at det tilsyneladende stigende rumfang pr. g NaCl med stigende koncentration af opløsningen, har en lignende årsag, som den der forårsager, at 1 g glucose har et større rumfang målt over for olie end over for vand. For NaCl kan det være den tiltagende tæthed af krystalgitteret, der mere og mere hindrer vandmolekylerne i at udfylde alle hulheder eller passe helt ind i saltmolekylerne. I *Landolt-Börnstein* (1905) tabel 116 g findes en tabel af Karsten fra 1846, hvor der er anført pct. NaCl fra 0,5 til 26,8 med intervaller på 0,5 pct., og den dertil svarende massefylde af opløsningen. Ud fra disse tal er de tilsvarende værdier af m_t og m_v i et 50 ml pyknometer beregnet. For de forskellige anførte værdier af m_v er K beregnet af:

$$K = \frac{m_t}{m_v}$$

Både i tabel 6 og i den tabel der er konstrueret ud fra Karstens tabel, kan der aflæses, hvilken værdi af K der skal benyttes for en tilfældig fundet værdi af m_v i 50 ml pyknometre. Ved aflæsning i tabel vil det som regel være nødvendigt at interpolere.

Der har tidligere været arbejdet en del med at finde formler for sammenhængen mellem koncentration af salte og volumen pr. grammolekyle. I *Landolt-Börnstein* tabel 89b findes en lille opstilling for NaCl, hvor Geffchen har udregnet volumen pr. grammolekyle ud fra formelen: Volumen pr. g mol. = $16,605 + 1,893 \cdot \sqrt{n}$. n er antal g mol. pr. liter. For 10 forskellige koncentrationer fra 0,0149 til 2,372 pct. NaCl, er der særdeles god overensstemmelse mellem fundet og beregnet rumfang. Ved at dividere med g pr. g mol. (58,5), kan omregnes til volumen af 1 g NaCl. Formlen forandres herved til: Volumen i cm^3 pr. 1 g NaCl = $0,2838 + 0,03235 \cdot \sqrt{n}$. Geffchen anfører, at formelen kun gælder til ca. 2,4 pct. NaCl. Geff-

chens formel giver ved indhold på over 5 pct. NaCl ret store afvigelser på værdierne for K i tabel 6. Forandres formelen til: $V = 0,269 + 0,041 \cdot \sqrt{n}$, fås bedre overensstemmelse med tabel 6. Grunden til at beskæftige sig med variationen af volumen for NaCl, er ønsket om ud fra en funden værdi for m_v at kunne finde en dertil svarende værdi af K . Vi har:

$$K = \frac{m_t}{m_v}, m_t - V = m_v \text{ og } K = \frac{1}{1 - V}$$

når $m_t = 1$ g og $d_v = 1$. Sættes Geffchens formel ind for V har vi:

$$K = \frac{1}{1 - V} = \frac{1}{1 - (0,269 + 0,041 \cdot \sqrt{n})}$$

Ved pyknometri er det kun værdien af M og m_v der bestemmes ved direkte vejning. Derfor kan Geffchens formel ikke benyttes til at finde den værdi af K , der skal benyttes. Ud fra undersøgelser ved Tylstrup er der i stedet fundet frem til formelen: $K = 1,415 + 0,017 \cdot m_v$. Det har vist sig, at den giver lige så gode værdier for K , som Geffchens formel og da den i stedet for den ukendte størrelse n indeholder den kendte størrelse m_v , er den let at benytte.

I tabel 6 er anført værdier for K , beregnet ud fra den ved vejning fundne værdi af m_v indsat i formelen: $K = 1,415 + 0,017 \cdot m_v$. De derved fundne værdier af K er benyttet i formelen: $m_t = m_v \cdot K$ og anført i næstbageste rubrik, og i bageste rubrik er i pct. anført de afvigelser, der bliver mellem de beregnede værdier af m_t og de virkelige vejetal. Det ses, at de værdier, der er fundet for K ud fra formelen: $K = 1,415 + 0,017 \cdot m_v$, indsat i formelen $m_t = m_v \cdot K$ giver ganske god overensstemmelse med de virkelige vejetal.

For at undersøge overensstemmelsen mellem tørring i ovn ved 125° og tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri af NaCl opløst i vand, blev der fremstillet 8 opløsninger af NaCl indeholdende fra 6 til 25 pct. NaCl.

Resultatet af undersøgelsen er anført i tabel 7.

Tørstofprocenterne fundet ved hjælp af pyknometri er beregnet ud fra formelen:

$$\%m_t = \frac{m_v \cdot K \cdot 100}{M}$$

De benyttede værdier af K er fundet i de to omtalte tabeller eller ud fra de omtalte formler. Lige

Tabel 7. Tørstofbestemmelse i NaCl

Prø- ve nr.	M	m_v	g mol. pr. liter	Tørring i ovn % m_t	Pyknometri ved 20° i 50 ml pyknometre									
					tabel 6			Karstens tabel		$K = 1,415 + 0,017 \cdot m_v$		Geffichens form.		Geffichens form. korr.
					% m_t	afv.	% m_t	afv.	% m_t	afv.	% m_t	afv.	% m_t	afv.
1	41,605	1,6488	0,814	5,724	5,724	0	5,712	÷ 0,012	5,720	÷ 0,004	5,769	+ 0,045	5,710	÷ 0,014
2	42,499	2,6578	1,330	9,156	9,161	+ 0,005	9,130	÷ 0,026	9,130	÷ 0,025	9,212	+ 0,056	9,147	÷ 0,009
3	21,721	1,9775	0,980	13,200	13,227	+ 0,027	13,157	÷ 0,043	13,188	÷ 0,012	13,307	+ 0,107	13,187	÷ 0,013
4	21,866	2,0915	1,038	13,886	13,927	+ 0,041	13,852	÷ 0,034	13,852	÷ 0,034	14,001	+ 0,115	13,878	÷ 0,008
5	21,897	2,1979	1,095	14,625	14,631	+ 0,006	14,563	÷ 0,062	14,578	÷ 0,047	14,928	+ 0,303	14,586	÷ 0,039
6	22,914	3,2595	1,642	20,963	20,960	÷ 0,003	20,943	÷ 0,020	20,914	÷ 0,049	21,083	+ 0,120	20,969	+ 0,006
7	23,210	3,6555	1,854	23,362	23,316	÷ 0,046	23,303	÷ 0,059	23,264	÷ 0,098	23,477	+ 0,115	23,368	+ 0,006
8	23,613	4,1129	2,096	25,958	25,936	÷ 0,022	25,887	÷ 0,071	25,864	÷ 0,094	26,021	+ 0,063	25,932	÷ 0,026

efter tørstofprocenterne beregnet ud fra de forskellige tabeller og formler er anført afvigelsen fra tørstofprocenterne fundet ved tørring i ovn.

Tabel 7 viser, at der kan opnås nøjagtige resultater af tørstofbestemmelser ved hjælp af pyknometri også for opløsninger af NaCl med meget forskellig koncentration. Værdien af tørstoffaktoren K , der skal benyttes, kan findes ud fra værdien af m_v . K findes lettest ud fra formelen: $K = 1,415 + 0,017 \cdot m_v$. Afvigelserne fra den tørstofprocent der er fundet ved tørring i ovn er ret ringe, og særlig når opløsningen i pyknometeret er 1,0 til 1,5 mol. Geffchens formel er som omtalt ikke brugbar, men i tabel 7 er anført m_t fundet ved tørring i ovn, og n kan beregnes af:

$$n = \frac{M \cdot \% m_t \cdot 1000}{50 \cdot 58,5}.$$

For stoffer med kontraktion er tørstofbestemmelse ved hjælp af pyknometri behandlet meget grundigt. Kontraktionen synes nemlig at være den største hindring for at den antagelse, at der kan udføres nøjagtige tørstofbestemmelser ved hjælp af pyknometri, kan anerkendes. Af det foran anførte fremgår, at vandindholdet i et stof med kontraktion ikke påvirker dets vægt i vand, såfremt koncentrationen holdes konstant (6%). Det er ligeledes påvist, at værdien af K ved vekslende koncentration kan findes ud fra værdien af m_v , når der findes en tabel eller formel, der viser variationen.

Det er kun for at få klaret principperne, at der er arbejdet med NaCl, eftersom det ved en passende temperatur er let at bestemme tørstofindholdet for NaCl ved tørring i ovn.

Kontrol på tørringen i ovn ved hjælp af pyknometri

Da det har vist sig, at tørstofbestemmelse ved tørring frit i ovn, ofte er ret unøjagtig for plantestoffer, er der for at finde den rette tørremetode grund til at kontrollere tørstofbestemmelserne ved hjælp af pyknometri. Ved vakuamtørring kan opnås resultater der er langt mere nøjagtige end de resultater, der kan fås ved tørring frit i ovn, men selv om der tørres i vakuum, er det vanskeligt at bedømme, om alt vand er fordrevet fra stoffet, uden at der er sket tørstoffab. Der er derfor gennemført en undersøgelse ved Tylstrup, hvor tørring af kål-

roer dels frit i ovn dels i vakuumovn er sammenlignet med kálroernes vægt i vand. De benyttede kálroer var tørret ved 40-50°, hvorefter vandindholdet havde fået lov at indstille sig efter luftens fugtighed i laboratoriet. I tabel 8 er anført resultatet af en undersøgelse 1960 med tørring af kálroer frit i ovn. Vakuamtørringen ved undersøgelsen 1960 var ikke helt tilfredsstillende. Derfor blev der 1966 gennemført en undersøgelse med vakuamtørring af en kálroeprøve udtaget 2/3 1964. Massefylden viste sig for de to prøver kálroer at afvige ret stærkt fra hinanden, hvilket muligvis skyldes roernes lange lagring 1964. Ved undersøgelserne benyttedes 3 fællesprøver à 3 g, som afvejedes direkte i pyknometrene, undtagen for tørring frit i ovn, hvor der blev tørret i pergamynkapsler og overført til pyknometrene efter tørringen.

Ved tørring frit i ovn blev der tørret 24 timer i Heraeusovn med mekanisk ventilator ved fra 40-50° til 130°. Dog blev prøve 1 ikke tørret. Tallene i tabellerne er både for tørstof og vægt i vand omregnet til vægt i g af 100 g afvejet stof. K er beregnet ud fra fundne vejetal af:

$$K = \frac{\% m_t}{\% m_v}.$$

Ved tørring frit i ovn er de fundne værdier af K alle ret stærkt afvigende fra det rigtige. For kálroe prøver benyttet 1960 blev der ud fra vakuamtørrede prøver fundet: $K = 2,4903$. For gennemsnit af $\% m_v$ prøve 1 og 2 tabel 8 fandtes $\% m_v = 37,222$.

Tørringen har for prøverne 3-7 forårsaget en formindskelse af $\% m_v$. Den beregnede formindskelse i $\% m_v$ er anført i næstbageste rubrik og i bageste rubrik er anført den beregnede formindskelse i $\% m_t$ ud fra: $\% m_t = \% m_v \cdot K$. De i tabel 8 fundne tørstofprocenter afviger alle temmeligt meget fra det rigtige, som kan findes ret nær ud fra: $\% m_t = \% m_v \cdot K$ og vi har: $37,222 \cdot 2,4903 = 92,694$ pct. tørstof. Der skulle altså være mulighed for at tørre rigtigt ved en temperatur mellem 65° og 80°. Det ses i tabel 8, at tørstofsvindet beregnet ud fra vægt i vand er større, end når det beregnes ud fra de ved direkte vejning fundne tørstofprocenter. Ved den kraftige tørring er $\% m_v$ formindsket forholdsvis mere end $\% m_t$. Ud fra tabel 8

Tabel 8. Bestemmelse af vægt i vand af kálroer efter tørring frit i ovn

	Tørring		Vægt af 100 g stof efter tørring		$\frac{\%m_t}{\%m_v} = K$	Tørretab for $\%m_v$	Tørstofab beregnet af $\%m_t = \%m_v \cdot K$
	antal timer	temp.	$\%m_t$	$\%m_v$			
1	Ikke tørret		100,00	37,230			
2	24	40-50°	94,55	37,214	2,5408		
3	24	65°	93,27	37,118	2,5127	0,104	0,259
4	24	80°	91,19	36,419	2,5040	0,803	2,000
5	24	100°	85,11	33,698	2,5258	3,524	8,776
6	24	115°	78,99	31,041	2,5447	6,181	15,393
7	24	130°	72,78	28,524	2,5515	8,698	21,661
	Rigtige værdier		92,694	37,222	2,4903		

kan udledes, at det ved tørring frit i ovn er vanskeligt at udføre en blot nogenlunde rigtig tørstofbestemmelse i kálroer.

I tabel 9 er anført resultatet for tørring af kálroer i vakuumovn 1966.

i vakuum 20-24 timer ved 50° + tørring 4-5 timer ved ca. 70°.

Medens den værdi der i tabel 8, for de enkelte prøver er beregnet for K , afviger stærkt fra $K = 2,4903$, som må anses for at være ret nær rigtig, af-

Tabel 9. Bestemmelse af vægt i vand af kálroer efter tørring i vakuum

	Tørring		Vægt af 100 g stof efter tørring		$\frac{\%m_t}{\%m_v} = K$	Tørretab for $\%m_v$	Tørstofab beregnet af $\%m_t = \%m_v \cdot K$
	antal timer	temp.	$\%m_t$	$\%m_v$			
1	Ikke tørret		100,00	37,836			
2	24	50°	93,45	37,850	2,4690		
3	135	50°	93,05	37,850	2,4584		
4	24 + 4	50° og 66°	93,19	37,860	2,4614		
5	20 + 5	50° og 73°	93,04	37,813	2,4605	0,036	0,088
6	24 + 4	50° og 76°	92,91	37,796	2,4582	0,053	0,130
7	24 + 4	50° og 90°	92,20	37,504	2,4584	0,345	0,848
8	20 + 5	50° og 94°	91,63	37,299	2,4566	0,550	1,352
	Rigtige værdier		93,44	37,849	2,4583		

Prøve 1 vist i tabel 9 er ikke tørret, medens de øvrige prøver er tørret 20-24 timer ved 50° sammen med konc. svovlsyre ved ca. 1 mm Hg tryk. For prøve 3 er tørringen fortsat i ekssikkator til der var tørret 135 timer og til sidst sammen med P_2O_5 . Tørres der ved 50°, kan vægtsvindet fortsættes længe. Efter 40 timers tørring var tørstofprocenten i prøve 3 93,25, efter yderligere 24 timers tørring 93,17 yderligere 23 timer 93,12 og yderligere 48 timer 93,05. For at fordrybe alt vand ved 50° skal der tørres så længe, at det bliver meget tidsrøvende. For prøverne 4-8 er der derfor efter tørring 20-24 timer ved 50° tørret 4-5 timer ved 66°-94°. Ud fra tabel 9 kan udledes, at den mest passende tørring for kálroer vil være tørring

viger de beregnede værdier for K af enkeltprøverne i tabel 9 ikke meget fra $K = 2,4583$, som må anses for at være ret nær rigtig. K for prøverne 3, 6 og 7 er benyttet til gennemsnit. Prøve 2, 4 og 5 har åbenbart ikke været helt tørre. Formindskelsen af $\%m_v$ for prøve 5 svarer til ca. 0,98% m_t , og prøven må endnu have indeholdt ca. 0,08% vand efter tørringen. Prøve 8 er tørret ved for høj temperatur. % tørstof og % vægt i vand er formindsket forholdsvis lige meget ved tørring 4 timer ved op til 90°. Det gør ikke noget, at der sker et tørstofab, ved bestemmelse af K ud fra:

$$K = \frac{\%m_t}{\%m_v},$$

såfremt tabet er forholdsvis lige stort for $\%m_t$ og $\%m_v$. Ligesom i tabel 8 er der ud fra formindskelsen af $\%m_v$ beregnet tørstofstab. Hos Ellis (1959) er anført, at Maillard-reaktionen ikke kan komme i gang, når der ikke er vand tilstede. Ud fra tabel 9 kan udledes, at der kun kræves ganske små vandmængder for at Maillard-reaktionen kan komme i gang.

Resultaterne anført i tabel 8 og 9 er vist grafisk i fig. 5 og 6. Langs abscisseakserne er det nr. anført, hvormed prøverne er betegnet i tabellerne. Op ad ordinatorne til venstre er anført pct. tørstof ($\%m_t$), medens der op ad ordinatorne til højre er anført den dertil svarende værdi af vægt i vand af 100 g stof ($\%m_v$) beregnet af:

$$\frac{\%m_t}{K} = \%m_v,$$

idet der benyttedes den værdi af K , som er fundet for pågældende prøve kålroer.

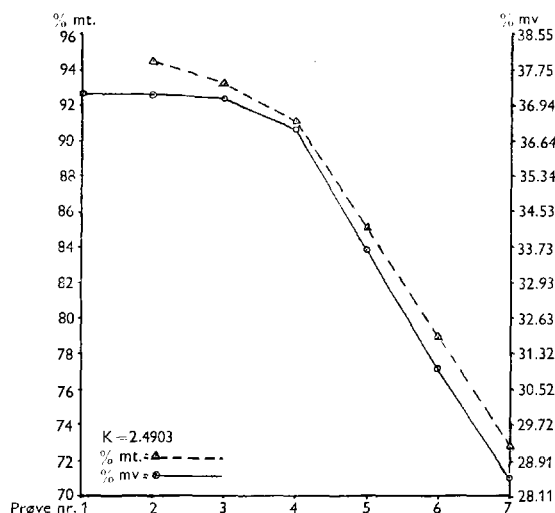


Fig. 5. % tørstof og % vægt i vand af kålroer ved tørring frit i ovn

I fig. 5 forløber linien for $\%m_v$ vandret fra prøve 1 til 2. Fra prøve 4 falder linien stærkt og omtrent jævnt med stigende temperatur. Linien for $\%m_t$ ligger højere end linien for $\%m_v$ og afstanden mellem de to linier er et mål for vandindholdet i prøven. Denne afstand er mindst ved prøve 4, som er tørret ved 80° . Derefter stiger afstanden

mellem de to linier jævnt. Den stigende afstand mellem linierne ved over 80° må antages at stamme fra, at tørstoffet ved sønderdelingen får en lavere massefylde. Der er dog en mulighed for, at det i nogen grad kan skyldes, at stoffet på grund af den stærke vandudvikling ved Maillard-reaktionen, får et højere vandindhold på trods af den høje tørretemperatur.

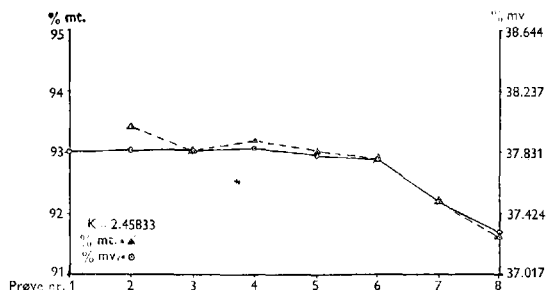


Fig. 6. % tørstof og % vægt i vand af kålroer ved vakuumtørring

Målestokken for $\%m_t$ og $\%m_v$ er i fig. 6 gjort 4 gange så stor som i fig. 5. Med samme målestok ville det være vanskeligt at se de ret små udslag, der er ved vakuumtørring. Linien for $\%m_v$ forløber for de første prøver omtrent vandret. De små variationer skyldes antagelig tilfældige fejl. Intet tyder på, at vægt i vand påvirkes af vandindholdet i stoffet. For prøve 5 er den fundne værdi af $\%m_t$ meget nær rigtig, men på fig. 6 ses, at der endnu er et lille vandindhold i prøven, som modsvares af et tørstofstab. Derimod viser fig. 6, at prøverne 3, 6 og 7 har været vandfri, idet kurverne for $\%m_t$ og $\%m_v$ falder sammen.

Ved at sammenligne fig. 5 og fig. 6 ses tydeligt, at vakuumtørring af kålroer, kan give langt bedre resultater end tørring frit i ovn. Tørres der i vakuum med et effektivt tørremiddel 20 timer ved $50^\circ + 4$ timer ved 70° , kan der fås et meget nært rigtigt resultat af en tørstofbestemmelse. Kålroer er et af de plantestoffer, for hvilke det er vanskeligt at få en nøjagtig tørstofbestemmelse. Ved den anførte vakuumtørring, må det derfor anses for sandsynligt, at der ikke alene kan fås nøjagtige tørstofresultater for kålroer, men også for de fleste andre plantestoffer.

Diskussion

Det er almindelig anerkendt, at det er vanskeligt at udføre en nøjagtig tørstofbestemmelse i plantestoffer. For at fordrive alt vand skal der tørres kraftigt, men tørres der ved for høj temperatur frit i ovn, forårsager Maillard-reaktionen ofte et tørstoftab. Tørres friske grønne plantedele ved under 60° kan der ske et tørstoftab på grund af iltning.

Undersøgelser ved Tylstrup har vist, at det for at få nøjagtige resultater af tørstofbestemmelse i plantestoffer, er nødvendigt at tørre i vakuum.

Det er den sidste rest af vand i stoffet, som vanskeligt kan fjernes uden at der samtidig sker et tørstoftab. Vakuumbørsting skal foregå ved et tryk, der helst ikke må være højere end 1 mm Hg og ved sluttøreringen skal der benyttes et meget effektivt vandsugningsmiddel. Tørres der ca. 20 timer ved 50° + 4 timer ved 70° er der mulighed for meget nær at finde det rigtige tørstofindhold. Ved at bestemme vægt i vand for en del af en stofprøve både med og uden tørning, kan det bedømmes, om der sker stoftab under tørningen. Den første del af tørningen kan foretages frit i ovn med kraftig luftcirkulation ved 50-60°, eller i vakuum, hvor vandet kondenseres på kølerør. Vakuumbørsting ved 50° har den fordel, at der ikke er fare for stofsønderdeling eller iltning. Er vakuumbørstningen tæt, er det tilstrækkeligt at pumpe luften ud ved tørningens påbegyndelse.

For sammenlignende undersøgelser, som ved sorts- og stammeforsøg, er det tilstrækkeligt, at prøver fra alle forsøgsled tørres til samme vandindhold. Tørning frit i ovn kan derfor benyttes. Det må dog tilstræbes, at et eventuelt vandindhold eller tørstoftab for de tørrede prøver bliver så lille som muligt, da det ikke er givet, at det vil blive ens for de forskellige sorter.

Sammen drag

Tørstofbestemmelse i plantestof anses af mange for at være en af de vanskeligste analyser. Ved Tylstrup Forsøgsstation er der påvist 3 systematiske fejlkilder

1. Ufuldstændig tørning fordi vandet er for stærkt bundet.

2. Tørstoftab forårsaget af Maillard-reaktionen.
3. Tørstoftab forårsaget ved iltning af friske plantestoffer.

Tørres lufttør, malet byg og kårloer i alm. tørreovn 20 timer ved 80°, vil byg efter tørningen endnu indeholde ca. 1 pct. vand, medens der for kårloer vil være sket et tørstoftab på over 2 pct. Planter indeholder monosaccharider sammen med aminosyrer, der danner sukker-aminosyre-kondensater, som kendetegnes ved, at de ved opvarmning til 50-60° begynder at spaltes til CO₂ + vand. Spaltningensgraden stiger stærkt med stigende temperatur. Denne reaktion kaldes Maillard-reaktionen, og er den væsentligste grund til, at tørstofbestemmelse i plantestoffer er vanskelig. Mængden af sukker-aminosyre-kondensater er stærkt varierende.

Tørstoftab som følge af iltning kan for frisk græs ved 30-40° andrage 0,2 pct. af tørstoffet pr. time.

Tørres der i vakuumbørsting ved under 50° ved 1 mm Hg-tryk, kan Maillard-reaktionen ikke komme i gang på grund af for lav temperatur, og iltning undgås på grund af iltmangel. Vanddampen, fra stoffet der tørres, kan kondenseres på et kølesystem. Ved sluttøreringen vil det være nødvendigt med opsugning i omtrent vandfrit vandopsugningsmiddel, som konc. svovlsyre, alumina eller fosforpentoxid. Ved 4-6 døgn vakuumbørsting ved 50° med tørt vandsugningsmiddel fås praktisk talt tørt stof. Tørres i stedet 20 timer ved 50° + 4-5 timer ved ca. 70°, kan der også forventes omtrent vandfrit stof, uden at der er sket et væsentligt tørstoftab.

Undersøgelser ved Tylstrup har vist, at der kan udføres nøjagtige tørstofbestemmelser ved hjælp af pyknometri. Følgende to sætninger har ved talrige efterprøvninger vist sig at være rigtige:

1. Et stofs vægt i vand påvirkes ikke af vandindholdet i stoffet.
2. Et stofs vægt i vand står i et ligefremt, af stoffets massefylde bestemt, forhold til tørstofindholdet i stoffet.

Før den vandholdige stofprøve vejes i det vand-

fyldte pycnometer, skal den ved en vakuumbehandling befries fuldstændigt for luft. Pycnometrets vægtforøgelse forårsaget af at stofprøven vejes deri, bestemmes af mængden og massefylden af det vandfri stof i prøven. Derimod påvirker vandet i prøven ikke vægt i vand.

Mellem vægten af det vandfri stof (m_t)*, som er i en prøve stof, der tages i arbejde (M), og vægt i vand (m_v) af prøven, er der et konstant forhold (K), som bestemmes af det vandfri stofs massefylde (d) i forhold til vandets massefylde (d_v) og vi har:

$$K = \frac{m_t}{m_v} = \frac{d}{d - d_v}$$

Skal tørstofprocenten ($\% m_t$), for en prøve stof der vejer M , bestemmes ud fra prøvens vægt i vand (m_v), kan den findes af følgende:

$$\% m_t = \frac{m_v \cdot 100 \cdot K}{M}$$

Er d for tørstoffet ikke kendt, må K bestemmes ud fra:

$$K = \frac{m_t}{m_v}$$

Det er let at bestemme m_v , men vanskeligt at bestemme den nøjagtige værdi af m_t . Tørres der over konc. svovlsyre i vakuum ved under 1 mm Hg-tryk 20 timer ved 50° + 5 timer ved 80°, vil

$$\frac{m_t}{m_v} = K$$

give en meget nær rigtig værdi for K . Under tør-ring ved ikke over 80° vil værdien af m_t og m_v formindskes forholdsvis lige meget, når samme prøve benyttes til begge bestemmelser.

Ved at sammenligne vægt i vand af 100 g M for tørrede og ikke tørrede prøver, kan et eventuelt tørstof-tab ved en tørring bestemmes. Såfremt der ikke er sket et tørstof-tab under tørringen, vil vægt i vand af 100 g M , bortset fra tilfældige fejl, være ens for alle prøver, eftersom vandindholdet i en prøve ikke påvirker dens vægt i vand.

Summary

Methods for the determination of dry matter in plant material

The determination of dry matter in plant material is often considered one of the most difficult analyses. In

the present investigation three sources of systematic error have been demonstrated:

1. Incomplete drying because water is too strongly bound.
2. Loss of organic matter caused by the Maillard reaction.
3. Loss due to oxidation of fresh vegetable matter.

When air-dried ground material of barley or swedes are dried in an ordinary oven for 20 hours at 80° C, barley will still contain about 1 pct. water, while swedes will suffer a loss of more than 2 pct. dry matter. Plant material containing monosaccharides as well as aminoacids will form sugar-amino acid condensates which begin to decompose into carbon dioxide and water when heated to 50-60° C. The rate of decomposition rises steeply with increasing temperature. This »Maillard Reaction« is the chief factor that makes the determination of dry matter in vegetable substances difficult. Loss due to oxidation may amount to 0,2 pct. dry matter per hour in fresh grass material at 30-40° C. If drying takes place in vacuum below 50° C and 1 mm Hg-pressure the Maillard reaction is not induced because of the low temperature and oxidation is prevented by the absence of oxygen. The water vapour from the material under drying may be condensed in a cooling system. At the final stage of drying, provision must be made for absorption by a practically water-free absorbing agent such as concentrated sulphuric acid, alumina, or phosphorus pentoxide. Drying in vacuum for 4 to 6 days at 50° C in the presence of a dry water-absorbent will ensure practically dry matter. Also, drying for 20 hours at 50° C followed by 4-5 hours at 70° C may give practically the same result without appreciable loss of dry matter.

Experiments in this laboratory have shown that exact determination of dry matter may also be achieved by pycnometry. Repeated test have proved that (1) the weight of a sample when weighed in water is not influenced by the water content of the matter, and (2) the weight in water is directly proportional to the amount of dry matter in the sample, dependent of the density of the matter.

The sample of moist plant material must be completely freed from air by vacuum treatment before it is weighed into the pycnometer. The increase in weight resulting from placing the sample in the pycnometer is then determined by the quantity and density of the added water-free matter. On the other hand the weight of a sample in water is not affected by its water content.

* Se fortegnelsen over de benyttede symboler side 104.

A constant proportion (K) exists between the weight of water-free matter (m_t) in a sample (M) to be analyzed, and the weight of the sample in water (m_v). The constant K is defined by the density (d) of the water-free matter in proportion to the density (d_v) of water. This gives us

$$K = \frac{m_t}{m_v} = \frac{d}{d - d_v}$$

If the percentage of dry matter ($\%m_t$) in a sample of weight M is to be determined on the basis of the sample weight in water (m_v), the calculation takes the following form:

$$\%m_t = \frac{m_v \cdot 100 \cdot K}{M}$$

If d of the dry matter is unknown, K must be determined on the basis of $K = m_t/m_v$. The determination of m_v is easy while that of the exact value of m_t is difficult. If drying takes place over concentrated sulphuric acid in vacuum (i. e. less than 1 mm Hg-pressure) for 20 hours at 50°C followed by 5 hours at 80°C, the proportion m_t/m_v will give a very closely correct value for K .

If drying takes place at no more than 80°C the values of m_t and m_v will be reduced to the same proportional extent if the same sample is used for both determinations.

A possible loss of dry matter during drying may be determined by comparing the weight in water of 100 g M samples of dried and non-dried material. If no dry matter is lost in drying, the weight in water of 100 g M will, except for accidental errors, be identical for all samples owing to the fact that the water content of a sample will not affect its weight in water.

Symbols used:

M : density in g of sample (usually moist material)

m_t : g water-free matter in M

$\%m_t$: g water-free matter in 100 g M

m_v : weight (in g) of M in water

$\%m_v$: weight (in 100 g of M) in water

d : density of m_t determined on the basis of water displaced by the air-free matter

d_v : the density of water

$$K \text{ (dry matter factor): } \frac{\%m_t}{\%m_v} = \frac{d}{d - d_v}$$

Litteratur

Arbejdsmetoder I del: Kemiske undersøgelser af mælk og mejeriprodukter m.m. samt foderstoffer. J. H. Schultz bogtrykkeri, Kbh. 1958.

Bergmann, Max, L. Zervas u. J. Overhoff: Notiz über

synthetische Zucker-Aminosäureverbindungen. Z. physiol. Chem. 224: 52-55. 1934.

British Standard 2511: 1954, Determination of water by the Karl Fischer method. Addendum No 1 1959.

Danehy, J. P. a. W. W. Pigman: Reactions between sugars and nitrogenous compounds and their relationship to certain food problems. *Advances in Food Research* 3: 241-290. 1951.

Du Toit, M. M. S. a. H. J. Page: Studies on the carbon and nitrogen cycles in the soil. IV. Natural and artificial humic acids. *J. Agr. Sci.* 22: 115-125. 1932.

Ellis, G. P.: The Maillard reaction. *Advances in carbohydrate chemistry* 14: 63-134. 1959.

Elson, L. A. and Morgan, W. T. J.: A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine. *Biochem. J.* 27: 1824-1828. 1933.

Enders, Curt u. K. Theis: Die Melanoidine und ihre Beziehung zu den Humussäuren. *Brennstoff-Chemie* 19: 360-365, 402-407 u. 439-449. 1938.

Enders, Curt u. S. Sigurdsson: Über den Chemismus der Huminsäurebildung unter physiologischen Bedingungen. V. Die einleitende Phase der Huminsäurebildung: Eine Aldolkondensation von Methylglyoxal. *Ber. Chem. Ges.* 76 B: 560-563. 1943.

ib. Zur Existenz und Bedeutung der Zucker-Triosegleichgewichte. V. Untersuchungen über Temperaturabhängigkeit, Reversibilität und pH-Abhängigkeit der Zucker-Triosegleichgewichte mit Hilfe von Ariyamas Reagens. *Biochem.* 316: 303-312. 1944.

Fischer, Karl: Neues Verfahren zur massanalytischen Bestimmung des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen Körpern. *Angew. Chem.* 48: 394-396. 1935.

Gottschalk, A. a. S. M. Partridge: Interaction between simple sugars and amino-acids. *Nature* 165: 684-685. 1950.

Helferich, B. u. R. Mittag: Über neuartige Verbindungen aus Zucker und Aminosäuren. *Ber. Chem. Ges.* 71 B: 1585-1590. 1938.

Irvine, J. C. a. A. Hynd: o-Carboxyanilides of the sugars. *J. Chem. Soc.* 99: 161-168. 1911.

Joslyn, A. Manyard: *Methodes in food analysis*. Acad. Press Inc., New York. 1950.

Kristensen, R. K.: En undersøgelse over Forholdet mellem Størrelse, Vægtfylde og Tørstofindhold af Runkelroer samt Variationer i Tørstofindholdet. *Tidsskr. Planteavl* 18: 277-309. 1911.

ib. Tørstofbestemmelse i Roer. *Tidsskr. Planteavl* 23: 155-163. 1916.

ib. Undersøgelser over Tørstofbestemmelse i Kartofler og Variationer i Tørstofindholdet. *Tidsskr. Planteavl* 24: 473-514. 1917.

- Landolt-Börnstein: 1905.*
- Land Jensen, H. og E. J. Nørgård Petersen:* Keglepropmetoden til bestemmelse af tørstofindholdet i roer. Tidsskr. Planteavl 60: 218-252. 1957.
- Lewin, S.:* Some aspects of the reaction of L-histidine with D-ribose, D-xylose, fructose, glucose and lactose. Biochem. J. 63: 5 p - 6 p. 1956.
- Lewin, S. a. C. Fox:* Some aspects of the reactions of D-glucose with glutamic acid, valine and lysine. Biochem. J. 63: 5 p. 1956.
- Løvtrup, S.:* Carlsberg mikrometoder. Kemisk Månedssblad 32: 57-65. 1951.
- Madsen-Mygdal, Aage og P. Christensen:* Undersøgelser vedrørende Tørstofbestemmelse i Roer. Tidsskr. Planteavl 19: 453-532. 1912.
- Maillard, L. C.:* Action des acides amines sur les sucres, formation des melanoidines par voie methodique. Compt. Rend. 154: 66-68. 1912 a.
- ib. Formation d'humus et de combustibles minéraux sans intervention de l'oxygène atmosphérique, des microorganismes, des hautes températures, ou des fortes pressions. Compt. Rend. 155: 1554-1556. 1912 b.
- ib. Reaction generale des acides amines sur les sucres: ses consequences biologiques. Compt. Rend. Soc. Biol. 72: 599-601. 1912 c.
- ib. Formation de matières humiques par action des polypeptides sur les sucres. Compt. Rend. 156: 1159-1160. 1913.
- ib. Synthèse des matières humiques par action des acides amines sur les sucres reducteurs. Ann. Chim. 5: 258-317. 1916.
- ib. Identité des matières humiques de synthèse avec les matières humiques naturelles. Ann. Chim. 7: 113-152. 1917.
- Middelboe, V. og D. Müller:* Ånding og sukker i kålroer. Ugeskrift f. Landmænd 90: 146-147. 1945.
- Neuberg, C. und Marie Kobel:* Über eine Reaktion der Fructose mit Alanin. Biochem. z. 162: 496-501. 1925.
- ib. Weiteres über die Reaktion einzelner Zuckerarten mit verschiedenen Aminosäuren nebst Bemerkungen über die Vergärung von Aminosäuren-Zucker-Gemischen. Biochem. z. 174: 464-479. 1926.
- Neuberg, C. u. Ernst Simon:* Über den Nachweis von Zucker neben Proteinen und die vermeintliche Kondensation von Kohlenhydraten mit Eiweiss. Ber. Chem. Ges. 60 B: 817-824. 1927.
- Nissen, M.:* Kartofflers vægt i vand. Tidsskr. Planteavl 57: 121-164. 1954.
- ib. The weight of potatoes in water. American Potato Journ. 32: 332-339. 1955.
- ib. Tørstoftab ved opvarmning af kløvergræs, forårsaget af iltning og Maillard-reaktionen. Tidsskr. Planteavl 67: 353-361. 1963.
- Ohle, Heinz, H. Friedeberg und G. Haeseler:* Synthesen mit 5,6-Anhydro-monoaceton-glucose. IV. Über Derivate des Glucosyl-(6)-phenylamins (6-Pehnylamino-chinovose). Ber. Chem. Ges. 69 B: 2311-2324. 1936.
- Saini, G. R.:* Determination of dry matter in potatoes. American Potato Journal 41: 123-125. 1964.
- Sprung, Murray M.:* Reactions of aldehydes with amines. Chem. Rev. 26: 297-338. 1940.
- Stewart, G. F. and R. W. Kline:* Factors influencing the rate of deterioration in dried egg albumin. Ind. Eng. Chem. 40: 916-919. 1948.