

*Statens Planteavlslaboratorium (Aage Henriksen)**Agrikulturmisk afdeling (Chresten Sørensen)*

Bestemmelse af methoxyl og træstof i rajgræs, byg og bederoer tilført stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium

Determination of methoxyl and crude fibre in ryegrass, barley and sugarbeets to which increasing amounts of nitrogen, phosphorus and potassium were applied

Arne Kyllingsbæk

Resumé

I plantemateriale fra et karforsøg med rajgræs, byg og bederoer tilført stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium blev der foretaget en bestemmelse af methoxyl- og træstofindholdet. Undersøgelsen blev udført for at sammenligne methoxylbestemmelsen med træstofbestemmelsen og for at undersøge virkningen af stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium på planternes indhold af methoxyl og træstof.

Ved bestemmelse af methoxyl i plantemateriale var det nødvendigt at holde destillations-tiden og stofmængden pr. analyse indenfor ret snævre grænser, ligesom det var nødvendigt at udskifte jodbrinten i destillationskolben mellem analyserne.

Som helhed fandtes ingen forskel på træstof- og methoxyl-bestemmelsens reproducerbarhed, ligesom arbejdskravet må anses for værende det samme for de to metoder.

Ved tilførsel af stigende mængder kvælstof til rajgræs fandtes en lille stigning i methoxyl- og træstofindhold. I bygalm fandtes et fald i methoxyl- og træstofindhold ved stigende kvælstof- og phosphortilførsel samt en stigning ved stigende kaliumtilførsel. I bederoer fandtes ingen nævneværdig ændring i methoxyl- og træstofindhold ved gødsning med de tre næringsstoffer.

Ud fra de fundne ændringer i methoxyl- og

træstofindhold ved tilførsel af stigende mængder af de tre næringsstoffer kan det dog ikke umiddelbart sluttes, at gødsning med kvælstof, phosphor eller kalium ændrer planternes methoxyl- eller træstofindhold. Gødsningen kan således også have bevirket, at planterne ikke har haft helt samme udviklingstrin på høsttidspunktet, hvilket kan have påvirket resultaterne.

Indledning

Da fordøjelighedsforsøg er tidsrøvende og forbundet med ret store omkostninger, foretages vurderingen af fodermidlers fordøjelighed oftest på grundlag af resultater fra kemiske analyser.

Nogle af de kemiske analysemetoder bygger i princippet på en bestemmelse af fodermidlernes indhold af ufordøjeligt stof. Dette gælder bl.a. træstof- og ligninbestemmelsen.

I stedet for en direkte bestemmelse af lignin, der er en arbejdskrævende procedure, er det foreslået at bestemme karakteristiske grupper i ligninet og derved opnå et indirekte udtryk for ligninindholdet. Bestemmelse af methoxyl ($-OCH_3$) er anvendt i adskillige undersøgelser, bl.a. af Kivimäe og Valdmaa (1964), Richards og Reid (1952), Richards et al. (1958), der fremhæver, at methoxylbestemmelsen er mindre arbejdskrævende og lettere at reproducere end ligninbestemmelsen.

Methoxylbestemmelsen har ikke været anvendt her i landet, men kunne tænkes som alternativ til træstofbestemmelsen, hvis methoxylindholdet er bedre korreleret med foder-værdien end træstofindholdet og analysen lettere at udføre.

For at undersøge, om methoxylbestemmelsen er lettere at udføre og reproducere end træstofbestemmelsen, blev de to metoder anvendt ved undersøgelse af methoxyl- og træstofindholdet i rajgræs, byg og bederoer tilført stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium.

Materiale og metoder

Det i undersøgelsen anvendte plantemateriale stammer fra et karforsøg med tre mængder kvælstof, phosphor og kalium tilført i alle 27 kombinationer til rajgræs og byg og i 24 forskellige kombinationer til bederoer, *Sørensen* (1971). I forsøgene med byg blev der kun foretaget analyse af strået.

Træstof bestemtes efter Weende-metoden, Arbejdsmetoder I (1958).

Methoxyl er med enkelte modifikationer bestemt efter *Vieböck* og *Schwappach* (1930) og *Bethge* og *Carlson* (1956). I et specielt konstrueret destillationsapparat (*Bethge* og *Carlson* (1956)) koges plantematerialet med jodbrinte (57 %). Jodbrinten reagerer med methoxylgrupper under dannelse af methyljodid, som destillerer over i et forlag indeholdende brom, kaliumacetat og iseddike. I forlaget omdannes jodet i methyljodidet til jodsyre. Efter reduktion af overskydende brom med myresyre tilsættes kaliumjodid og svovlsyre. Ved tilsætning af kaliumjodid og svovlsyre dannes frit jod, som titreres med natriumthiosulfat.

Resultater

Ved bestemmelse af methoxyl i vanilin, der indeholder 20,4 % methoxyl, fandtes et methoxylindhold på 20,4–20,7 % i 12 prøver varierende fra ca. 0,02 til 0,07 g vanilin pr. analyse.

Resultater fra undersøgelser med forskellig destillationstid og stofmængde pr. analyse er vist i fig. 1. Undersøgelserne blev udført med tre forskellige mængder rajgræstørstof, henholdsvis ca. 0,07, 0,18 og 0,27 g pr. analyse. Ved hver analyse blev forlaget udskiftet fire gange i løbet af en samlet destillationstid på 140 min. Forlagene udskiftedes 30, 50, 75 og 105 min. efter destillationens begyndelse.

Af figuren (fig. 1) ses, at methoxyludbyttets størrelse er afhængig af destillationstiden og den anvendte stofmængde pr. analyse, men den forholdsvis lille stigning i methoxyludbyttet ved at forlænge destillationstiden ud over 50 min. antyder, at der kan opnås tilfredsstillende reproducerbare analyseværdier ved anvendelse af alle de tre tørstofmængder, når der destilleres 50 min. eller mere.

I nærværende undersøgelse anvendtes en destillationstid på 60 min. og en stofmængde på ca. 0,2 g pr. analyse.

Ved tilsætning af vanilin til tre forskellige mængder græstørstof – ca. 0,1, 0,2 og 0,3 g pr. analyse – og destillation i 60 min. fandtes i gennemsnit 99,9 % af forventet methoxyl i prøver tilsat 0,02 g vanilin og 98,1 % i gennemsnit for prøver tilsat 0,04 g vanilin.

Standardafvigelsen på resultaterne fra bestemmelse af methoxyl og træstof i det analyserede plantemateriale er vist i tabel 1.

Tabel 1. Standardafvigelser for resultater fra bestemmelse af methoxyl og træstof i bygstrå, rajgræs og bederoer.

			Variations-		
			bredde for		
			pct. methoxyl	s	s rel.
			og pct. træstof		
Bygstrå	Methoxyl	1,50–	2,72	0,03	1,3
	Træstof	20,2	–38,5	0,3	1,1
Rajgræs	Methoxyl	0,88–	1,31	0,01	1,3
	Træstof	15,8	–19,9	0,2	1,2
Bederoer, rod	Methoxyl	0,71–	1,15	0,02	1,9
	Træstof	4,6	– 8,3	0,1	1,8
Bederoer, bladplade	Methoxyl	1,52–	1,84	0,02	1,1
	Træstof	8,6	–10,7	0,2	2,3

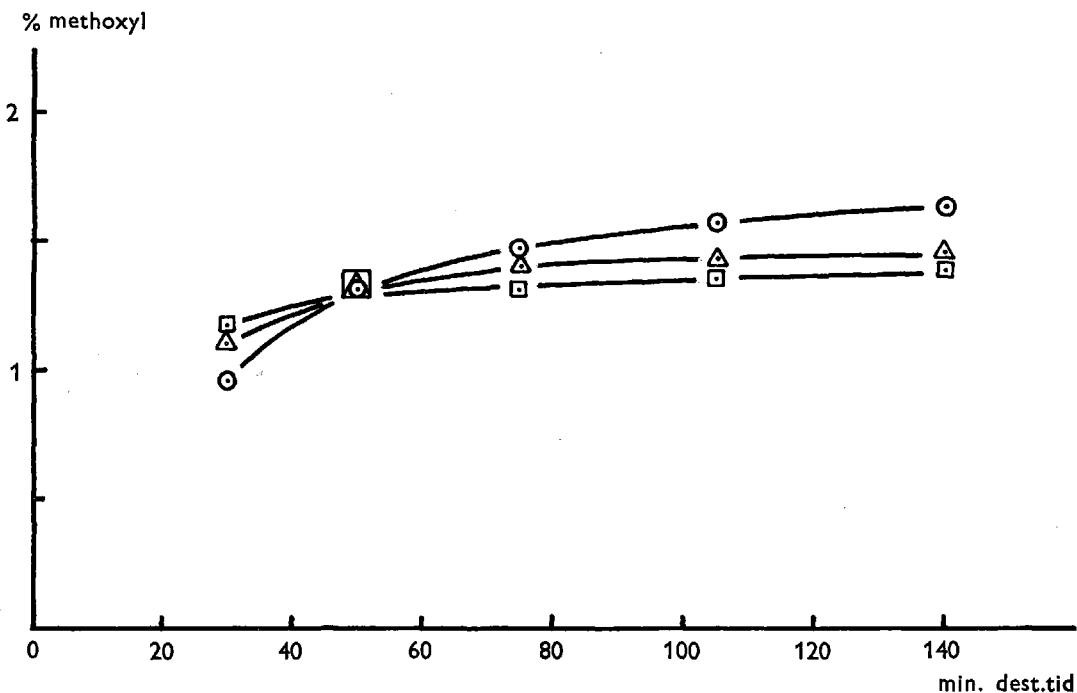


Fig. 1. Relation mellem destillationstid og methoxyl bestemt i tre forskellige mængder rajgræstørstof.

○ : 0,0694 g tørstof, △ : 0,1762 g tørstof, ◻ : 0,2736 g tørstof.

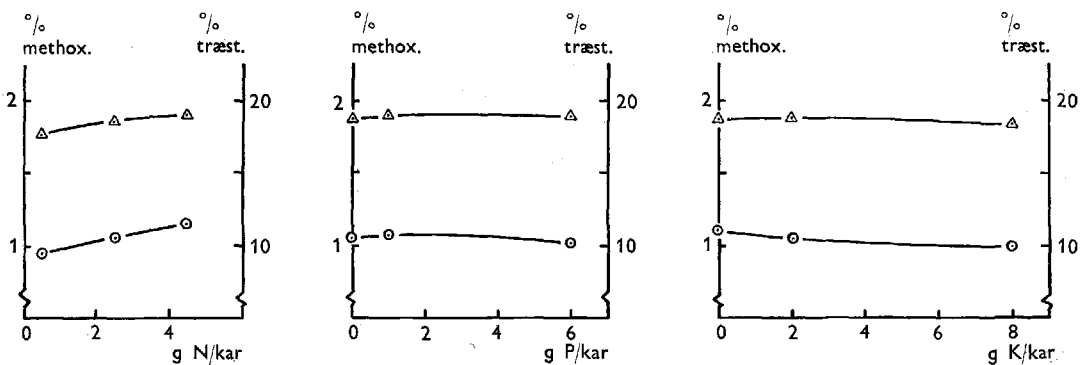


Fig. 2. Methoxyl- og træstofindhold i rajgræs ved tilførsel af stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium.

○ : methoxyl, △ : træstof.

Af tabellen ses, at den relative analysefejl for de to analysemetoder er af samme størrelsesorden indenfor de enkelte plantearter. Dog er analysefejlen på træstofbestemmelsen større end på methoxylbestemmelsen for bladplade af bederoer.

Virksomheden af stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium på methoxyl- og træstofindholdet i rajgræs, bygghalm og bederoer fremgår af figurerne 2, 3 og 4. Som omtalt side 2 stammer plantematerialet fra et karforsøg med tilførsel af tre mængder kvælstof, phosphor og

kalium i forskellige kombinationer. I figurerne er imidlertid kun vist den gennemsnitlige virkning af de enkelte næringsstoffer, idet kurveforløbet for hvert af de tre næringsstoffer i princippet er det samme ved de forskellige kombinationer med de to andre.

Af figurerne 2, 3 og 4 fremgår, at ved stigende tilførsel af de tre næringsstoffer er kurveforløbet for methoxyl- og træstofindholdet tilnærmelsesvis ens for de enkelte plantearter og næringsstoffer.

Ved sammenligning af de tre figurer ses tilfælde, at forholdet methoxyl:træstof er betydeligt højere i bederoer end i græs og bygghalm.

I rajrgræs (fig. 2) stiger methoxyl- og træstofindholdet med stigende kvælstoftilførsel. Tilførsel af stigende mængder phosphor og kalium har derimod ingen større virkning, dog er der en tendens til et fald i methoxylindholdet ved stigende kaliumtilførsel.

Af fig. 3 ses, at methoxyl- og træstofindholdet i bygghalm falder stærkt med stigende kvælstoftilførsel. Med stigende phosphortilførsel, indtil 2 g phosphor pr. kar, er der ligeledes et kraftigt fald i methoxyl- og træstofindholdet, men kun et lille fald ved yderligere phosphortilførsel. I modsætning til virkningen af kvælstof og phosphor ses, at der er en stigning i methoxyl- og træstofindholdet ved stigende kaliumtilførsel op til 4 g kalium pr. kar, hvorefter der er et lille fald ved yderligere kaliumtilførsel.

Tilførsel af stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium til bederoer (fig. 4) medfører ikke nogen større ændring af methoxyl- og træstofindholdet i bladplade eller rod. Dog er der en tendens til et fald i methoxyl- og træstofindholdet i bladpladen ved stigende kvælstoftilførsel og i roden ved stigende kaliumtilførsel.

Diskussion og konklusion

Det fundne methoxyludbytte ved bestemmelse af methoxyl i vanilin er i god overensstemmelse med resultater af *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964) og viser, at vanilin-mængderne kan

varieres stærkt, uden at det relative methoxyludbytte ændres. Ved bestemmelse af methoxyl i plantemateriale påvirkes det relative methoxyludbytte (se fig. 1) både af den anvendte stofmængde og af destillationstiden. Stofmængden og destillationstiden må således holdes indenfor ret snævre grænser, ligesom det er nødvendigt at udskifte jodbrinten efter hver analyse og dermed fjerne resterne af plantematerialet fra den foregående analyse.

Ved tilsætning af ca. 0,02 og 0,04 g vanilin til græstørstof svarede det fundne methoxyludbytte næsten til det forventede, hvilket er i god overensstemmelse med resultater af *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964), men resultaterne giver ingen oplysninger om, hvorvidt methoxylbestemmelsen i plantematerialet er kvantitativ. Resultaterne fra undersøgelsen med forskellig destillationstid tyder derimod på, at methoxylbestemmelsen i græstørstof ikke er fuldstændig kvantitativ ved en destillationstid på 60 min. Stigningen i methoxyludbyttet ved en destillationstid ud over 60 min. er imidlertid så lille, at denne må betragtes som værende af mindre betydning. Ifølge standardafvigelseerne i tabel 1 må reproducerbarheden anses for tilfredsstillende – og stort set lige god for methoxyl- og træstofbestemmelsen, hvilket også fremgår af standardafvigelseerne for resultater fra methoxyl- og træstofbestemmelser i undersøgelser udført af *Richards* og *Reid* (1952).

Overensstemmelsen mellem kurveforløbet for methoxyl- og træstofindholdet ved stigende næringsstoftilførsel (fig. 2, 3 og 4) antyder, at der er et ret snævert sammenhæng mellem methoxyl- og træstofindholdet i de tre plantearter. Dette er i overensstemmelse med resultater af *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964), der fandt en god korrelation mellem methoxyl- og træstofindholdet i lucerne, timothe og første slæt af rødkløver. Derimod fandt *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964) en mindre god korrelation i andet slæt af rødkløver.

Forholdet mellem methoxyl- og træstofindholdet varierer fra planteart til planteart. *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964) fandt, at forholdet mellem methoxyl- og træstofindholdet var

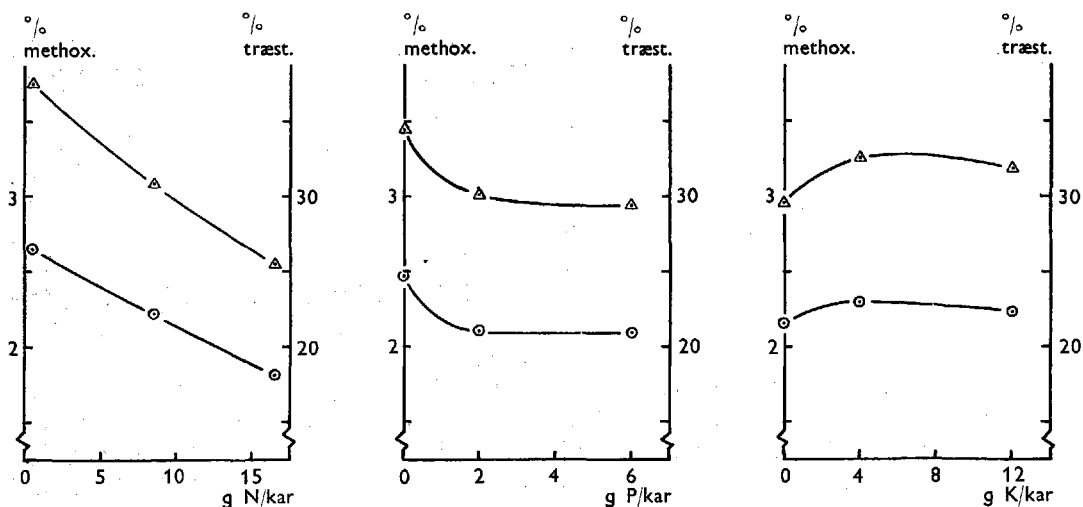


Fig. 3. Methoxyl- og tråstofindhold i byghalm ved tilførsel af stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium.

○ : methoxyl, △ : tråstof.

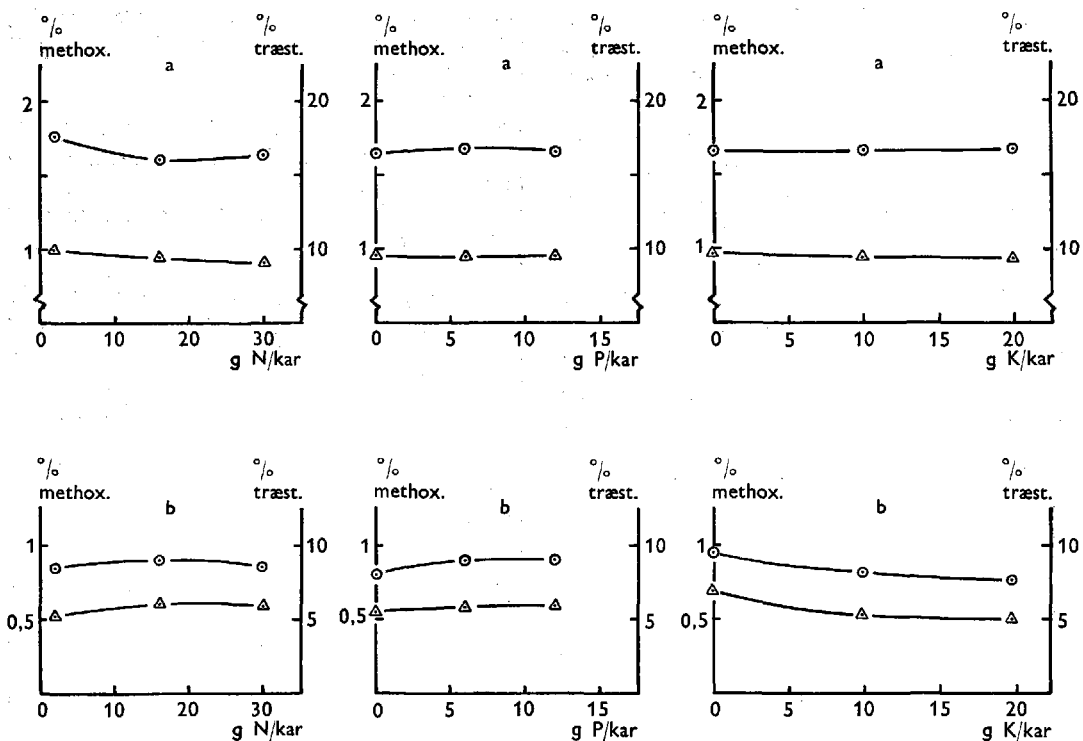


Fig. 4. Methoxyl- og tråstofindhold i bladplade og rod af bedroer tilført stigende mængder kvælstof, phosphor og kalium.

a: bladplade, b: rod, ○ : methoxyl, △ : tråstof.

højere i rødkløver og lucerne end i timothe, og i nærværende undersøgelse fandtes, at forholdet mellem methoxyl- og træstofindholdet var betydeligt højere i bederoer end i bygstrå og rajgræs. Dette kan skyldes, at forholdet mellem de komponenter, som udgør planternes træstofindhold, er forskelligt for de forskellige plantearter samt, at methoxylindholdet i lignin varierer fra planteart til planteart, men kan også skyldes, at der i analyseresultaterne ved methoxylbestemmelsen indgår methylgrupper, som stammer fra andre stoffer end lignin. Ifølge undersøgelser af *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964) og *Fischer* (1961) indgår en stor del af planternes methoxylindhold således i andre stoffer end lignin, ligesom undersøgelser af *Shearer* (1961) har vist, at methylgrupper bundet til kvælstof eller svovl i nogen grad kan reagere med jodbrinte under dannelse af methyljodid.

Ifølge undersøgelser af *Kofoed* og *Klausen* (1969) og *Jacobsen* (1967) stiger træstofindholdet i græs med stigende kvælstoftilførsel. Planternes udviklingstrin anses dog for at have større betydning for træstofindholdet end gødskningen. *Pedersen et al.* (1971) fandt således, at træstofindholdet i rajgræs, engsvingel, timothe og hundegræs steg med stigende slættidsinterval, hvorimod kvælstofgødskningen ikke påvirkede afgrødernes træstofindhold i nævneværdig grad. Endvidere har undersøgelser af bl.a. *Kivimäe* (1959) vist, at træstofindholdet stiger stærkt med planternes alder. Ud fra de fundne ændringer i methoxyl- og træstofindholdet ved tilførsel af stigende mængder næringsstof (fig. 2, 3 og 4) kan det derfor ikke umiddelbart sluttes, at gødskning med kvælstof, phosphor eller kalium ændrer planternes methoxyl- og træstofindhold. Ændringen kan således også skyldes en indirekte virkning af gødskningen, idet denne kan have bevirket, at planterne ikke har haft helt samme udviklingstrin på høsttidspunktet, selv om dette ikke umiddelbart har kunnet konstateres visuelt.

Spørgsmålet, om methoxyl- eller træstofindholdet er bedst egnet som grundlag for vurdering af fodermidlers fordøjelighed, kan ikke

afgøres ud fra resultater i nærværende arbejde, idet dette kræver gennemførelse af fordøjelighedsforsøg, men ifølge undersøgelser af bl.a. *Richards* og *Reid* (1952), *Richards et al.* (1958), *Anthony* og *Reid* (1958), *Shearer* (1961) og *Kivimäe* og *Valdmaa* (1964) er planternes methoxylindhold stærkt korreleret med planternes fordøjelighed, ligesom der ofte er en bedre korrelation mellem methoxylindholdet og fordøjeligheden end mellem træstofindholdet og fordøjeligheden.

I analyse-mæssig henseende er den ene analysemetode ikke at foretrække fremfor den anden, idet arbejdskravet stort set er ens, ligesom reproducerbarheden er omtrent lige god for begge metoder.

Summary

The content of methoxyl and crude fibre were investigated in samples of ryegrass, barley straw and sugarbeets from pot experiments receiving increasing amounts of nitrogen, phosphorus and potassium in various combinations.

The reproducibility of the methoxyl method was found to be equal to that of the Weende method for crude fibre, however, it was necessary to renew the hydroiodic acid in the distillation flask for each sample and to keep the time of distillation constant. In respect to time consumption the two methods were equal too.

Increasing fertilization by nitrogen led in ryegrass to a small increase in the concentration of methoxyl and crude fibre, in barley straw to a decrease in concentration whereas in sugarbeets the concentration was independent of the application of nitrogen.

In barley straw the concentration of methoxyl and crude fibre decreased by increasing phosphorus fertilization and increased by increasing potassium fertilization.

In ryegrass and sugarbeets increasing phosphorus or potassium fertilization produced no significant influence on the concentration of methoxyl and crude fibre.

The results showed proportionality between the contents of methoxyl and these of crude fibre in the investigated plant material.

The concentration of methoxyl and crude fibre in plant material in relation to fertilization and state of plant development is briefly discussed.

Litteratur

- Anthony, W. B. and Reid, J. T. 1958: Methoxyl as an indicator of the nutritive value of forage. *J. Dairy Sci.* 41, 1715-1722.
- Arbejdsmetoder I del: Kemiske undersøgelser af mælk og mejeriprodukter m.m. samt foderstoffer. København 1958.
- Bethge, P. O. and Carlson, O. T. 1956: On the semimicro determination of methoxyl. *Analytica Chemica Acta*, 15, 279-283.
- Fischer, H. 1961: Lignin and feedstuff evaluation. A literature review. *Ann. Roy. Coll. Agric.* 27, 493-509.
- Jacobsen, A. 1967: Forsøg med græsmarksafgrøder. 10. Forsøg med stigende kvælstofmængders indflydelse på græstørstoffets næringsværdi 1965-66. Beretn. om Fællesforsøg i Landbo- og Husmandf. 1966: 194-197.
- Kivimäe, A. 1959: Chemical composition and digestibility of some grassland crops with particular reference to changes caused by growth, season and diurnal variation. *Acta Agr. Scand. Suppl.* 5, 1-142.
- Kivimäe, A. and Valdmaa, K. 1964: Methoxyl as an index of the nutritive value of timothy. *Acta Agr. Scand.* 14, 165-177.
- Kofoed, A. Dam og Klausen, P. Søndergaard 1969: Kvælstofgødning til kløvergræs og rent græs. *Tidsskr. for Planteavl* 73, 203-246.
- Pedersen, E. J. Nørgaard et al. 1971: Græsser i renbestand I. Artens, kvælstofgødskningens og slætantallets indflydelse på græsudbytte og kvalitet. 1. Beretning fra Fællesudvalget for Statens Planteavl- og Husdyrbrugsudvalg, Kbh. 1971.
- Richards, C. R. and Reid, J. T. 1952: The use of methoxyl groups in forage and fecal materials as an index of the feeding value of forages. *J. Dairy Sci.* 35, 595-602.
- Richards, C. R., Weaver, H. G. and Conolly, J. D. 1958: Comparison of methoxyl, lignin, crude fiber, and crude protein contents of forage and feces as indirect indicators of dry matter digestibility. *J. Dairy Sci.* 41, 956-962.
- Shearer, D. A. 1961: Methoxyl analysis of feeds and feces: A comparison of methods. *Canadian J. Anim. Sci.* 41, 197-204.
- Sørensen, C. 1971: Upublic.
- Vieböck, F. und Schwappach, A. 1930: Eine neue Methode zur massanalytischen Bestimmung der Methoxyl- und Äthoxylgruppe. *Ber. d. Deutschen Chemischen Gesellschaft* 63, 2818-2823.

Manuskript modtaget den 31. maj 1972.