

Om anvendelse af farvebindingsmetoden til bestemmelse af proteinindhold i korn

On the use of the dye binding method for determination of protein content in cereals

Jørgen Mortensen

Resumé

En metode til bestemmelse af proteinindhold ved måling af farvebindingskapacitet blev afprøvet på prøver af byg, havre, hvede og rug.

I relation til N-indholdet var farvebindingen forskellig for de forskellige arter, medens den var omtrent ens i relation til indholdet af basiske aminosyrer på mol-basis.

Bestemmelse af farvebindingskapacitet for stivelse og havreskal viste, efter korrektion for indholdet af basiske aminosyrer, en binding på 0,42 mg farve pr. 300 mg stivelse og 0,45 mg farve pr. 50 mg skal.

Relationen mellem farvebindingskapacitet og N-indhold viste ingen variation mellem prøver fra forskellige dyrkningssteder, medens der fandtes nogen variation mellem forskellige høstår, muligvis for en del på grund af dårlig reproducerbarhed af farvebindingsmålingerne.

I relation til N-indhold var farvebindingskapaciteten større for vårhvedesorten Kolibri end for Sappo og større for rugsorten Kongs end for Petkus, hvilket var i overensstemmelse med en forskel i sorternes indhold af basiske aminosyrer.

Farvebindingsmetoden synes at være anvendelig til orienterende proteinbestemmelser i korn forudsat en hyppig kontrol af sammenhængen mellem farvebinding og kvælstofindhold.

Nøgleord: Proteinbestemmelse, farvebindingsmetode, korn.

Summary

A method for estimation of protein content based on determination of the dye binding capacity was investigated for samples of grain of barley, oat, wheat and rye.

The dye binding capacity was different for the different cereals in relation to the nitrogen content but was equal in relation to the content of basic amino acids on a molar base.

The dye binding capacity for starch and oat hulls were found to be 0,42 mg dye for 300 mg of starch and 0,45 mg dye for 50 mg of hulls after correction for dye binding to the content of basic amino acids.

The relationship between dye binding capacity and nitrogen content showed no variation between samples from different localities, but some variation was found between samples from different years, which for a part may be caused by bad reproducibility of the dye binding method.

In relation to the nitrogen content the dye binding capacity was higher for the spring wheat cultivar Kolobri than for Sappo and higher for the rye cultivar Kongs than for Petkus, which was explainable from differences in the content of basic amino acids between the cultivars.

Provided standardization of the procedure and frequent control on the relation between dye binding capacity and nitrogen content, the method seems to be applicable for estimation of the protein content in grain.

Key words: Protein determination, dye binding method, cereals.

Indledning

I fortsættelse af beretning om anvendelse af farvebindingsmetoden til proteinbestemmelse i græsmarksplanter (*Mortensen*, 1976) skal der i denne beretning omtales resultater fra anvendelse af metoden til bestemmelse af protein i kerneprøver af forskellige kornarter.

Siden *Udy* (1956) fandt farvebindingsmetoden anvendelig til proteinbestemmelse i hvedekerne, har metoden i forskellige modifikationer været afprøvet på forskelligt materiale og anvendeligheden søgt vurderet. Det har vist sig at forskellige forhold vedrørende materialet kan påvirke farvebindingen, når denne ses i relation til indholdet af kvælstof eller protein.

Således har det været påvist at relationen mellem farvebindingskapaciteten og indholdet af protein i bygkerne bestemt efter Kjeldahlmetoden ændredes ved opvarmning eller spiring af kernerne (*Mossberg*, 1965). For hvedekernerne fandt *Fajersson*, (1966) at relationen påvirkedes af årgang, sort og gødskning. *Bjørklund* (1971) fandt forskellige relationer for 2 bygsorter (*Foma* og *Birgitta*).

Med apparatur og analyseforskrifter til farvebindingsmetoden følger som regel en metode (skala, tabel, beregningsformel) til omsætning af den målte farvebinding til proteinindhold. Det må imidlertid betragtes som nødvendigt at kontrollere de givne omsætningsformler ved samtidige bestemmelser af farvebinding og proteinindhold efter Kjeldahlmetoden. (*Greenaway*, 1972).

Bindingen af farve sker primært til de basiske aminosyrer. Da indholdet af basiske aminosyrer i proteinet er forskelligt fra kornart til kornart, udgør proteinindholdet ikke en fælles basis for farvebindingskapaciteten for alle kornarter. (*Mossberg*, 1968).

For den enkelte kornart regnes normalt med et ret lovbundet forhold mellem proteinindholdet og indholdet af basiske aminosyrer, hvilket skulle muliggøre anvendelse af farvebindingsmetoden til proteinbestemmelser.

Da lysin er en af de basiske aminosyrer og tillige har en særlig interesse på grund af, at den i en del materiale er den første begrænsende aminosyre for proteinudnyttelsen, er farvebindings-

metoden også søgt anvendt til bestemmelse af den tilgængelige lysinmængde i proteinet, f.eks. i fiskeemel (*Jacobsen* et al. 1972) og byg (*Dahl*, 1973). Det er da nødvendigt samtidigt at bestemme indholdet af kvælstof.

Gullord (1974) tilskriver farvebindingsmetoden større værdi som hurtigmetode til vurdering af lysinindholdet, end til proteinbestemmelser i korn.

Farvebindingsmetoden har også med held været anvendt til søgning efter varieteter eller sorter af forskellige kornarter med højt lysinindhold, f.eks. i byg. (*Munck* et al. 1970; *Viuf*, 1972; *Doll*, 1973).

Formålet med nærværende undersøgelse har været at skaffe et grundlag for vurdering af farvebindingsmetodens anvendelighed til proteinbestemmelser i korn.

Der er foretaget en analyse af farvebindingens afhængighed af indholdet af basiske aminosyrer i kornproteinet samt en undersøgelse af omfanget af farvebinding til andre komponenter end protein, såsom stivelse og havreskal.

Desuden er målt farvebindingen til en række prøver af byg, havre, hvede og rug fra forskellige sorter, forsøgssteder og år og resultaterne sat i relation til indholdet af kvælstof bestemt efter Kjeldahlmetoden.

Undersøgelser omtalt i 1. beretning (*Mortensen*, 1976) viste, at farvebindingen målt pr. vægtenhed var afhængig af reaktionstid og -temperatur og af prøvestørrelsen, hvorfor det er nødvendigt at anvende standardiserede betingelser ved målingerne.

Materialer og metoder

Der blev anvendt kornprøver fra sortsforsøg. Høstår, sort, station og N-gødskning er vist i tabel 1.

Formaling af prøverne foretoges på en Tecator-mølle med 0,5 mm sold.

Prøvestørrelse ved farvebindingen var 0,5 g, for havre dog som regel 0,4 g. Farvebindingsreaktionen foretoges ved rotation af prøverne i reagensglas med 20 ml farvevæske i 2 timer ved 60 omd./min. En nærmere beskrivelse af den anvendte metodik og reagenser findes i 1. beretning

Tabel 1. Oversigt over data for anvendte kerneprøver

Art	År	Sorter	Stationer	N-trin*)
Byg	1972	Emir, Pallas, Nordal, Tern, Mona, Mala	Rønhave	I – III
	1973	Pallas, Zita	Borris, Rønhave, Tystofte	I – III
	1974	Pallas, Zita	Borris, Tystofte	I – III
Havre	1972	Stål, Astor, Selma, Sofi	Rønhave	I – III
	1973	Stål, Astor	Borris, Roskilde, Rønhave, Tylstrup	I – III
	1974	Astor, Selma	Borris, Roskilde, Rønhave, Tylstrup	II
Vinterhvede	1972	Starke, Kranich, Cato, J. Cambier	Rønhave	I – III
	1973	Starke, Kranich, Cato	Borris, Rønhave, Tystofte	I – III
	1974	Starke, Kranich, Solid	Borris, Rønhave, Roskilde Tystofte	II III
Vårhvede	1973	Kolibri, Sappo	Borris, Rønhave, Tystofte	I – III
	1974	Kolibri, Sappo	Abed, Borris, Roskilde Åkirkeby, Rønhave, Tystofte	II III
Rug	1972	Petkus, Kongs, Pekuro, Værne, Otello, Sejet	Tylstrup	I – III
	1973	Petkus, Kongs	Borris, Tylstrup, Tystofte	I – III
	1974	Petkus, Kongs, Pekuro	Borris, Roskilde, Tylstrup, Tystofte	II

*) I, II og III for henholdsvis 1 N, 2 N og 3 N.

(Mortensen, 1976). Farvebindingen omregnedes til tørstofbasis på grundlag af en tørstofbestemmelse.

Indhold af totalkvælstof (TN) bestemtes efter Kjeldahlmetoden. (Arbejdsmetoder, 1958).

Aminosyreanalyserne foretoges på en Beckman 121 aminosyreanalysator med Infotronic integrator.

De statistiske beregninger blev foretaget på Dataanalytisk laboratorium (K. Kristensen).

Resultater og diskussion

Farvebindingen i relation til indhold af basiske aminosyrer (BAA), lysin og totalkvælstof (TN)

Farvebindingsmetoden er baseret på de basiske aminosyrers evne til adsorption af sure farvestofmolekyler, hvorfor de enkelte kornarters farvebindingskapacitet må forventes at være afhængig af proteinstoffernes indhold af basiske aminosyrer.

For nærmere at klargøre årsagerne til eventuelle forskelle eller ligheder i de enkelte kornarters farvebindings-/kvælstofindhold-relationer, blev der af hver art udtaget 6 prøver med forskelligt TN-indhold til aminosyreanalyser.

I fig. 1 A er vist relationen mellem farvebinding og indhold af basiske aminosyrer (BAA). Relationerne er omtrent sammenfaldende for alle arter, men dog med en lidt større relativ farvebinding for havre og byg.

Derimod forholder kornarterne sig ikke ens med hensyn til relationen mellem farvebinding og TN-indhold, som det fremgår af fig. 1 B. Årsagen til disse forskelle er naturligvis forskelle i indholdet af BAA i proteinet, hvilket ses af fig. 2 A, hvor indholdet af BAA pr. mg TN er sat i relation til TN-koncentrationen. Havre har her den højeste

beliggenhed i overensstemmelse med den højeste beliggenhed i fig. 1 B, og vår- og vinterhvede tilsvarende den laveste beliggenhed i begge figurer. Man bemærker også at havrens indhold af BAA ikke aftager med stigende TN-indhold som for de andre kornarter (fig. 2 A), hvilket stemmer overens med den stærkere stigning i farvebindingen i relation til TN-indholdet for havre (fig. 1 B).

Farvebindingen har ofte været forbundet med indholdet af lysin, som dog ikke danner nogen almen basis herfor for alle kornarterne (fig. 1 C). Navnlig afviger hveden her med tydeligt lavere farvebinding på denne basis, hvilket skyldes at den har et tydeligt lavere lysin/BAA-forhold end de andre kornarter (fig. 2 B). Det ses, at der generelt for alle arter er et fald i forholdet lys/BAA med stigende TN-indhold.

Det er velkendt at koncentrationen af lysin i proteinet falder med stigende N-indhold i byg og hvede, medens der ikke synes at være et tilsvarende fald i havre (Bengtsson & Eggum, 1969). Resultater fra karforsøg med stigende N-tilførsel til havre (Steenbjerg et al. 1972) viste, at koncentrationen på N-basis af lysin og især af de øvrige basiske aminosyrer steg med stigende kvælstofindhold.

Farvebinding (μmol farve bundet/g tørstof)
Dye binding capacity (μmol dye bound/g DM)

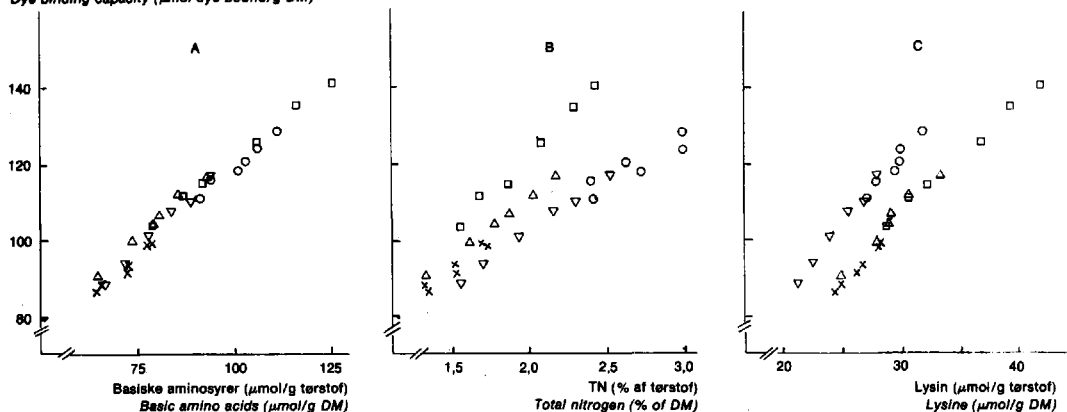


Fig. 1. Farvebinding i relation til indhold af basiske aminosyrer (A), totalkvælstof (B) og lysin (C) for forskellige kornarter.

Dye binding capacity in relation to the content of basic amino acids (A), total nitrogen (B), and lysine (C) for some cereals.

△ Byg Barley; □ Havre Oats; ▽ Vinterhvede Winter wheat; ○ Vårhvede Spring wheat; × Rug Rye.

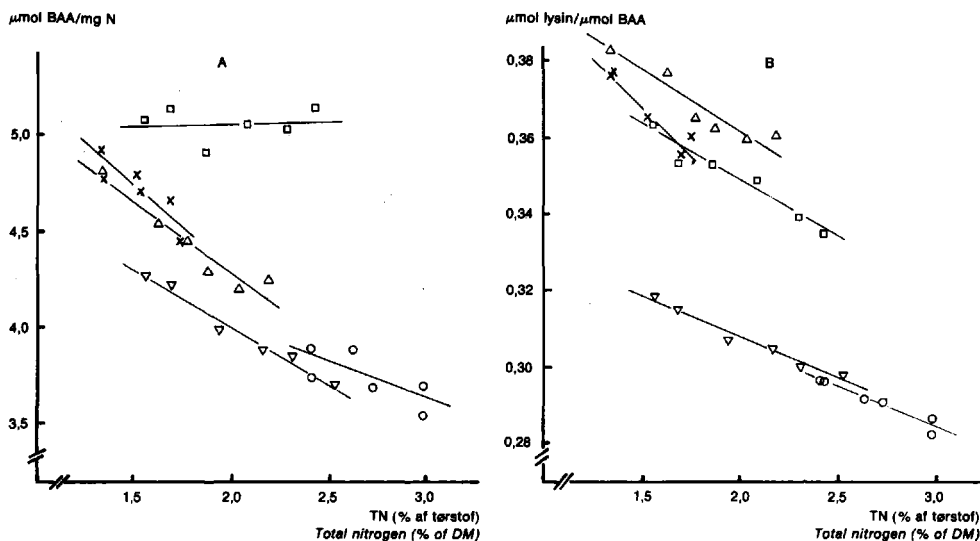


Fig. 2. Indhold af basiske aminosyrer (BAA) pr. mg N (A) og forholdet lysin/BAA (B) i relation til indhold af totalkvælstof for forskellige kornarter.

Content of basic amino acids (BAA) per mg N (A) and the quotient lysine/BAA (B) in relation to content of total nitrogen for some cereals.

Δ Byg Barley; $\square$ Havre Oat; $\triangle$ Vinterhvede Winter wheat; $\circ$ Vårhvede Spring wheat; $\times$ Rug Rye.

Nærværende analyser viste dog et lidt aftagende lysin/TN-forhold i havre ved stigende TN-koncentration, som det vil fremgå ved sammenhold af kurveforløbene i fig. 2 A og 2 B.

Ved sammenligning af akseverdierne for punkterne i fig. 1 A ses at farvebindingskapaciteten er større end svarende til ækvivalens med indholdet af BAA, hvilket indikerer et bindingsforhold mellem farve og BAA større end 1,0 på molbasis eller at der bindes farve til andet end de proteinbundne basiske aminosyrer.

Derimod indikerer kurvens hældning (beregnet til 0,89 i en retliniet regressionsligning med farvebinding som afhængig variabel) at farvebindingen ikke var ækvivalent med forøgelsen i BAA. Da korrelationskoefficienten var ret høj ($r^2 = 0,973$), kunne det forventes at hældningen skulle være nær 1,0 såfremt bindingen skete mol til mol. At dette ikke er tilfældet skyldes antagelig at den mængde farve som bindes afhænger af farvestofkoncentrationen i opløsningen. Da der gås ud fra en konstant farvekoncentration og et konstant væskevolumen bliver der mindre og mindre farve

til rådighed når BAA-mængden forøges, og dermed følger en aftagende farvebinding pr. enhed BAA.

Farvebinding til prøver afvejet til samme indhold af basiske aminosyrer

Som omtalt bindes mere farve end svarende til ækvivalens med BAA-indholdet, hvilket tyder på en binding af farve til andre komponenter end de basiske aminosyrer.

Resultaterne vist i fig. 1 A tyder på, at havre og byg har en lidt større relativ farvebindingskapacitet end de øvrige kornarter, hvilket måske kunne skyldes deres større indhold af skal (træstof).

Til yderligere belysning af disse forhold blev der for prøverne, i hvilke der var foretaget aminosyreanalyser, bestemt farvebinding til en prøvemængde svarende til et beregnet indhold af $40\mu\text{mol BAA}$.

Der opnås herved den fordel, at ligevægtskoncentrationen (restkoncentrationen) af farve som har betydning for farvebindingens størrelse, er omtrent ens for alle prøver.

Resultaterne fremgår af fig. 3, hvor farvebindingen er sat i relation til vægtmængden af prøverne. Man bemærker, at farvebindingen har udgjort noget over den ækvivalente mængde på 40 μmol . For samme vægtmængde er farvebindingen højest for havre og byg i nævnte rækkefølge i de områder, hvor sammenligning er mulig.

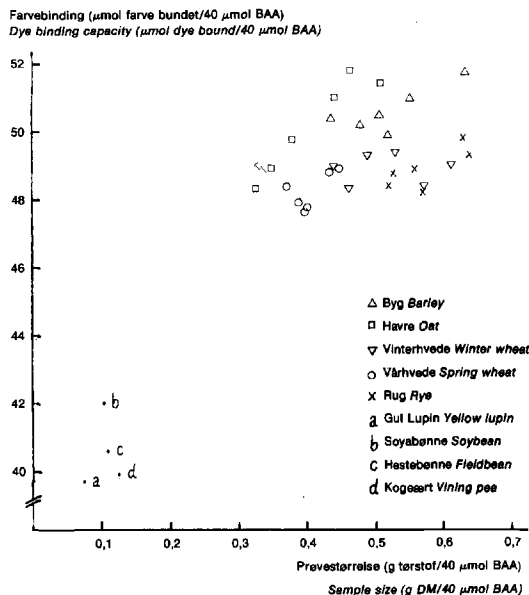


Fig. 3. Farvebinding til prøver indeholdende 40 μmol BAA i relation til prøvestørrelsen.

Dye binding capacity for samples containing 40 μmol BAA each in relation to the sample size.

Det ses tillige, at den bundne farvemængde øges tydeligt med prøvestørrelsen for havre, mindre for byg og kun lidt eller utydeligt for hvede og rug, hvilket igen tyder på en binding af farve til skaldelene.

På fig. 3. er også vist nogle resultater fra tilsvarende målinger på enkeltprøver af forskellige bælplanter. Farvebindingen til disse prøver er meget nær ækvivalent med indholdet af BAA, men på grund af det højere proteinaminoisyreindhold er vægtmængden af prøve naturligvis betydeligt mindre, hvorved en binding til andre komponenter end BAA vil formindskes.

Man har også anvendt farvebindingen på N-ba-

sis, (Dahl, 1973; Gullord, 1974) d.v.s. målt farvebindingskapaciteten til prøver afvejet således at de indeholdt en konstant N-mængde. Såfremt de fandtes afvigelser, f.eks. aftagende farvebindingskapacitet med stigende N-%, er det blevet udlagt som ændringer i BAA- eller lysinindholdet. Det må imidlertid erindres at farvebindingen kan være afhængig af stofmængden, som det viste sig ved afvejningen til konstant BAA-indhold. Med stigende N-% vil stofmængden, der skal afvejes til konstant N-mængde, aftage og dermed også farvebindingen til de N-frie stoffer.

Indflydelse af stivelse og skaldele på farvebindingskapaciteten

Af det foregående er fremgået, at bindingen af farve kan ske til andet end de basiske aminosyrer.

Udy (1956) anfører, at der også kan ske en adsorption af farve til stivelse. Farvebindingskapaciteten var dog så lille, at den skønnedes uden betydning i det omfang stivelsesindholdet kunne forventes at variere.

Ved måling på rajgræsprøver fandtes en relativt højere farvebindingskapacitet, når træstofindholdet øgedes (Mortensen, 1976).

For nærmere at klarlægge den nævnte mulige indflydelse af skaldele (træstofholdige) og stivelse på farvebindingen blev der foretaget 2 mindre undersøgelser med tilsætning af formalede havreskaldele og hvedestivelse til prøver af henholdsvis havre og hvede.

I tabel 2 er anført resultaterne fra undersøgelsen med havreskal. Ud fra målingerne er beregnet den forøgelse i farvebindingen som tilsætningen af skaldele har medført. Skaldelene var imidlertid ikke kvælstoffrie, hvorfor indholdet af BAA blev målt for at kunne korrigere for bindingen af farve hertil. Der blev fratrukket en farvemængde svarende til, hvad der bandtes til samme mængde BAA, når indholdet heraf øgedes med stigende N-indhold. Til rest blev en farvemængde på 0,45 mg farve pr. 50 mg skal, som må siges at være bundet til de egentlige N-frie skaldele.

Resultaterne af det tilsvarende eksperiment med hvedestivelse er anført i tabel 3. På tilsvarende måde er korrigeret for indhold af BAA.

Tabel 2. Farvebinding til havreskal. Havrekerneprøver (400 mg) med forskelligt N-indhold målt med og uden tilsætning af havreskal
Dye binding capacity of oat hulls. Three samples of oat grain (400 mg) with different nitrogen content measured with or without oat hulls added

N-indhold i kerne % <i>Nitrogen content in grain (%)</i>	BAA-indhold ($\mu\text{mol}/\text{prøve}$) <i>BAA content ($\mu\text{mol}/\text{samples}$)</i>	Skalmængde tilsat (mg/prøve) <i>Addition of hulls (mg/sample)</i>		
		0	25	50
		mg farve bundet/prøve <i>mg dye bound/sample</i>		
1,55	29,2	13,94	14,37	14,58
2,08	39,0	17,17	17,51	17,72
2,42	46,0	19,17	19,30	19,76

Forøgelse i farvebinding ved skaltilsætning:

Increase in dye binding capacity by addition of hulls:

Målt (gns.)	0,30	0,59
<i>Measured (mean)</i>		
Effekt af BAA-indhold i skal (beregnet)	0,07	0,15
<i>Effect of BAA content in hulls (calculated)</i>		
Effekt af »egentlige« skaldele	0,23	0,44
<i>Effect of »real« hulls</i>		
Gns. for 50 mg skal		0,45
<i>Mean for 50 mg hulls</i>		

Tabel 3. Farvebinding til hvedestivelse. Hvedekerneprøver (500 mg) med forskelligt N-indhold målt med og uden tilsætning af hvedestivelse

Dye binding capacity of wheat starch. Four samples of wheat grain (500 mg) with different nitrogen content measured with or without wheat starch added

N-indhold i kerne (%) <i>Nitrogen content in grain (%)</i>	BAA-indhold ($\mu\text{mol}/\text{prøve}$) <i>BAA content ($\mu\text{mol}/\text{sample}$)</i>	Stivelsesmængde tilsat (mg/prøve) <i>Addition of starch (mg/sample)</i>		
		0	150	300
		mg farve bundet/prøve <i>mg dye bound/sample</i>		
1,69	32,5	14,45	14,88	15,17
1,94	35,3	15,64	15,90	16,24
2,16	38,2	16,70	17,09	17,21
2,53	43,0	18,28	18,53	18,79

Forøgelse i farvebinding ved stivelsestilsætning:

Increase in dye binding capacity by addition of starch:

Målt (gns.)	0,33	0,58
<i>Measured (mean)</i>		
Effekt af BAA-indhold i stivelse (beregnet)	0,10	0,20
<i>Effect of BAA content in starch (calculated)</i>		
Effekt af »egentlige« stivelse	0,23	0,38
<i>Effect of »real« starch</i>		
Gns. for 300 mg stivelse		0,42
<i>Mean for 300 mg starch</i>		

Restvirkningen udgjorde 0,42 mg farve bundet pr. 300 mg egentlig stivelse, altså en kendelig mindre specifik virkning end af skaldelene.

Tilsyneladende findes således en farvebinding til andre komponenter end proteinet. Dette behøver imidlertid ikke at have fejlgivende indflydelse på farvebindingsmetodens resultater såfremt 1) komponenten altid udgør en bestemt procentdel af materialet eller 2) indholdet af komponenten er snævert korreleret med proteinindholdet.

Bindingen til stivelse vil således næppe medføre fejl, dels fordi farvebindingskapaciteten er meget lav (0,4 mg farve pr. 300 mg stivelse), dels fordi der næppe findes variationer på over 10% eller ca. 100 mg stivelse pr. g kerne og denne variation antagelig tillige er korreleret (negativt) med proteinindholdet i betydelig grad.

Derimod er det sandsynligt, at skalindholdet i havre kan influere mærkbart på proteinbestemmelsen med farvebindingsmetoden. Angivelser af skalindholdet for havre fra forskellige år, steder og sorter viser en variation fra ca. 22 til ca. 35% (Hummel – Gumællins, 1974; Svend Nielsen, Tylstrup, personlig meddelelse), altså en variation på over 100 mg skal pr. g kerne. Dette modsvarer en variation i farvebindingen på 0,9 mg farve pr. g kerne eller ca. 0,35% protein.

Ud fra materialet fra Tylstrup med bestemmelser af både skalindhold og proteinindhold synes der ikke at være nogen korrelation mellem disse parametre, men en nærmere undersøgelse med et større materiale kunne ønskes.

Forsøg med spiring af byg

Mossberg (1965) fandt, at ved bestemmelse af proteinindhold efter farvebindingsmetoden og Kjeldahlmetoden under et spiringsforløb fremkom der en overgang i dette spiringsforløb målelige forskelle mellem de to metoder. Dette blev tilskrevet en nedbrydning af proteinstofferne til aminosyrer i denne periode, hvorved farvebindingen vil aftage, da den ikke påvirkes af frie aminosyrer.

Et lignende eksperiment blev foretaget med spiring af byg i petriskåle. Hver dag blev der udtaget prøver over en periode af 5 dage. Sidste

dag havde kernerne op til over 1 cm lange rodspirer. Ved måling af farvebinding og renprotein-kvælstof kunne dog ikke konstateres tydelige ændringer under spiringsforløbet. Spiringen synes således ikke at have forårsaget væsentlige ændringer i proteinindholdet.

Relation mellem farvebinding og indhold af to-talkvælstof (TN) for forskellige kornarter

I en række prøver af forskellige kornarter fra sortsforsøg (data fremgår af tabel 1) blev der bestemt farvebindingskapacitet og indhold af TN.

I fig 4 er vist relationen mellem resultaterne af de to metoder for byg opdelt på de 3 høstår. Det fremgår af figuren, at der tilsyneladende er nogen forskel mellem årene, med relativt lavere farvebinding for prøverne fra 1972 end for 1973 og 1974.

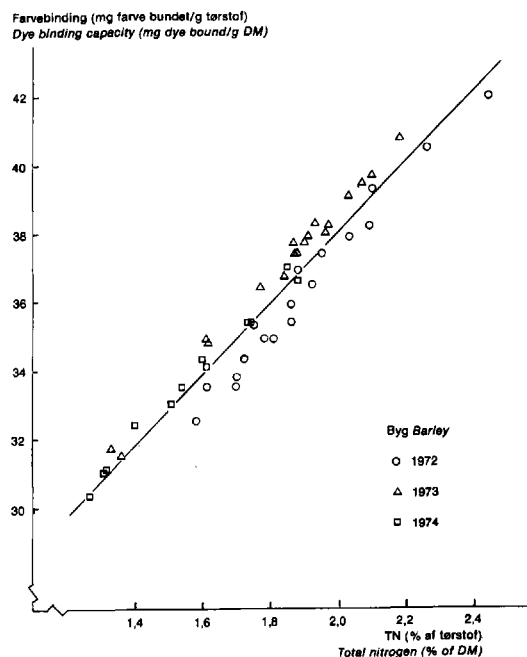


Fig. 4. Relation mellem farvebinding og indhold af to-talkvælstof for byg fra forskellige år.

Relation between dye binding capacity and content of total nitrogen for barley from different years.

Der blev beregnet korrelationskoefficienter og retliniede regressionsligninger ($Y = a + bX$) for sammenhængen mellem de to metoders resultater med farvebindingen som afhængig variabel. I tabel 4 er vist resultaterne for samtlige arter opdelt på høstår.

I stedet for den anden konstant i regressionsligningerne (farvebindingen for $TN = 0$) er anført den farvebinding, som svarer til middelværdien af TN-procenterne af samtlige prøver for hver en-

kelt art. Man får hermed en mere »praktisk« sammenligning af ligningernes »niveauer« i det aktuelle måleområde.

Anvendelsen af retliniede regressionsligninger indikerer ikke, at sammenhængen mellem farvebindingen og TN anses for lineært i hele forløbet, men kun at det med god tilnærmelse synes at gælde i det undersøgte område. Set over et større område vil sammenhængen antagelig skulle beskrives ved en krum kurve, som følge af at der

Tabel 4. Korrelationskoefficienter og regressionsparametre med farvebinding (mg farve bundet/g tørstof) som afhængig og TN-koncentration (% af tørstof) som uafhængig variabel for forskellige kornarter i enkelte år og samlet
Correlation coefficients and regression parameters for dye binding capacity (mg dye bound/g DM) as dependent and total nitrogen concentration (% in DM) as independent variate for different species. The years taken separately or collectively

Art <i>Species</i>	År <i>Years</i>	Antal prøver <i>Number of samples</i>	r Korr.- koeff. <i>Corr.- coeff.</i>	s Spred- ning <i>Standard deviation</i>	b Hæld- ning <i>Slope</i>	s_b	Niveau*) <i>Level</i>
Byg <i>Barley</i>	1972	18	0,984	0,48	11,3	0,5	35,1
	1973	18	0,996	0,23	10,7	0,2	36,5
	1974	12	0,994	0,25	10,4	0,4	36,1
	1972-74	48	0,969	0,70	10,4	0,4	35,9
Havre <i>Oat</i>	1972	12	0,987	0,49	18,6	1,0	46,0
	1973	24	0,991	0,56	15,1	0,4	44,7
	1974	8	0,993	0,53	17,9	0,9	44,6
	1972-74	44	0,979	0,78	15,5	0,5	45,0
Vinter- hvede <i>Winter wheat</i>	1972	15	0,987	0,49	11,6	0,5	33,7
	1973	27	0,994	0,33	10,2	0,2	34,6
	1974	12	0,985	0,31	9,9	0,5	34,3
	1972-74	54	0,979	0,56	10,8	0,3	34,3
Vårhvede <i>Spring wheat</i>	1973	18	0,926	0,78	8,4	0,9	40,0
	1974	12	0,956	0,71	10,4	1,1	39,7
	1973-74	30	0,965	0,77	9,7	0,5	39,7
Rug <i>Rye</i>	1972	18	0,989	0,35	13,2	0,5	33,7
	1973	17	0,963	0,60	11,9	0,9	32,9
	1974	12	0,975	0,48	12,4	0,9	32,0
	1972-74	47	0,929	0,86	12,8	0,8	33,0

*) Farvebinding (mg farve bundet/g tørstof) svarende til den gennemsnitlige TN-koncentration for alle år for hver enkelt art. Gns. TN-koncentration (%): Byg 1,79; Havre 2,00; Vinterhvede 1,88; Vårhvede 2,46; Rug 1,57. Dye binding capacity (mg dye bound/g DM) corresponding to the mean nitrogen concentration of all years of each individual species. Mean nitrogen conc. (%): Barley 1,79; Oat 2,00; Winter wheat 1,88; Spring wheat 2,46; Rye 1,57.

anvendes en konstant farvemængde ved målingerne. Med stigende N-indhold i prøverne bliver der mindre og mindre farve til rådighed, hvorved bindingen pr. N-mængde aftager.

En statistisk sammenligning af de enkelte års regressionsligninger (hældning og niveau) viste for alle arter signifikante forskelle mellem årene ($P > 99,9\%$).

Muligvis er de fundne årsvariationer ikke alene betinget af variationer i materialets egenskaber, da det har vist sig vanskeligt at reproducere resultaterne, når farvebindingsmålingerne foretages med tidsmellemrum. Genanalysering af nogle prøver efter en vis tid gav således en relativ spredning mellem 1. og 2. måling på ca. 1,2%, medens samtidige målinger udviste en relativ spredning mellem dobbeltbestemmelserne på ca. 0,3%.

En medvirkende årsag til den ringere reproducerbarhed med tidsmellemrum kan være temperaturforskelle, da farvebindingen har vist sig afhængig af temperaturen under reaktionen (Mortensen, 1976). Der er dog ikke foretaget korrektioner for eventuelle forskelle, da sådanne ikke er foreskrevet i proceduren.

Indflydelse af høståret på farvebindingsmetoden er også fundet af Fajersson (1966).

Der kunne ikke iagttages væsentlige stedvariationer, d.v.s. forskelle mellem relationerne for prøver fra forskellige stationer.

Relation mellem farvebinding og indhold af TN og basiske aminosyrer i sorter af vårhvede og rug
Der kunne ikke iagttages væsentlige forskelle mellem de anvendte sorter af byg, havre og vinterhvede med hensyn til relationerne mellem farvebinding og TN-indhold.

Derimod fandtes der tydelige forskelle mellem vårhvedesorterne Kolibri og Sappo og rugsorterne Kongs og Petkus. Dette forklarer de relativt lave korrelationskoefficienter på enkeltårene for disse arter (tabel 4).

I fig. 5 er vist relationerne mellem farvebinding og kvælstofindhold opdelt på de to vårhvedesorter Kolibri og Sappo. Da niveauforskellene mellem årene ikke var særligt store, blev der ikke

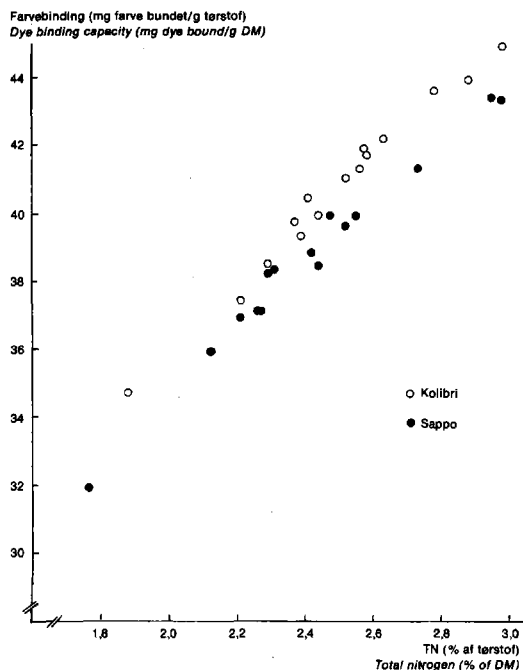


Fig. 5. Relation mellem farvebinding og indhold af totalkvælstof for vårhvedesorterne Kolibri og Sappo (høstår 1973 og 1974).

Relation between dye binding capacity and content of total nitrogen for the spring wheat cultivars Kolibri and Sappo (harvest 1973 and 1974).

korrigeret herfor. Det ses, at relativt var farvebindingen tydeligt højere for Kolibri end for Sappo.

En tilsvarende opdeling på rugsorterne Kongs og Petkus er vist i fig. 6, men for at gøre billedet klarere er niveauforskellene mellem årene fjernet. Den relative farvebinding var tydeligt højere for Kongs end for Petkus.

Der fandtes ikke signifikante forskelle mellem hældningerne for de to sorter inden for samme art ved beregning af retliniede regressionsligninger. Beregnet for alle år under et og med samme hældning for de parvise sorter svarede afstanden mellem deres regressionsligninger til 1,35 mg farve pr. g tørstof for vårhvede og til 0,83 mg for rug. Dette udgjorde henholdsvis 3,4 og 2,5% af de respektive middelværdier for farvebindingen.

Farvebinding (mg farve bundet/g tørstof)
Dye binding capacity (mg dye bound/g DM)

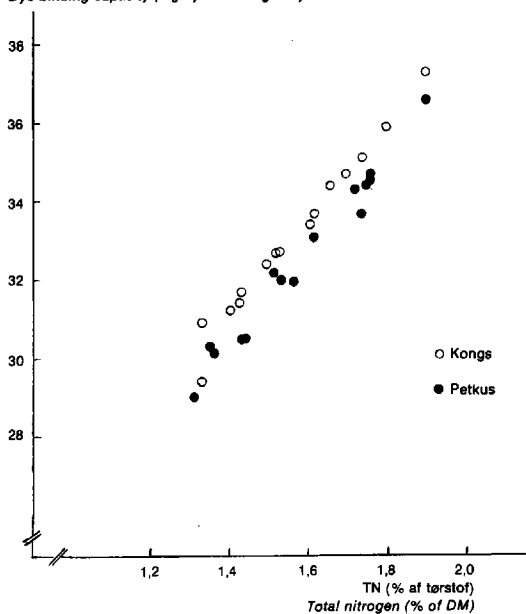


Fig. 6. Relation mellem farvebinding og indhold af totalkvælstof for rugsorterne Kongs og Petkus (høstår 1972, 1973 og 1974). Niveauforskelle mellem år fjernet. Relation between dye binding capacity and content of total nitrogen for the rye cultivars Kongs and Petkus (harvest 1972, 1973 and 1974). Level differences between years eliminated.

Da forskellen mellem kornarterne med hensyn til farvebindingskapacitet for hovedparten synes at kunne forklares ved forskelle i indholdet af basiske aminosyre i proteinstofferne, var det nærliggende at undersøge om de tilsvarende fundne forskelle mellem vårhvedesorterne Kolibri og Sappo og rugsorterne Kongs og Petkus kunne forklares på lignende måde.

I tabel 5 er anført indhold af N, basiske aminosyrer og lysin samt farvebindingen på basis af disse komponenter for 3 prøver af hver vårhvedesort og tilsvarende data for rugsorterne i tabel 6. Ved udvælgelsen af prøver til aminosyreanalyser er det tilstræbt at få parvis samme N-% i sorterne af samme art, da en sammenligning herved lettes.

Det ses, at medens farvebindingen pr. mg N er forskellig for sorterne, som det tidligere er vist, er farvebindingen med BAA som basis ens for de to sorter af henholdsvis vårhvede og rug.

Dette gælder også når lysin anvendes som basis.

Forskellen mellem sorterne kan altså forklares ved forskelle i indhold af basiske aminosyrer, som det også fremgår af tabellerne.

De fundne forskelle mellem sorterne vil medføre, at de efter farvebindingsmetoden vil få tillagt

Tabel 5. Indhold af totalkvælstof (TN), basiske aminosyrer (BAA) og lysin samt farvebinding på basis af disse komponenter for vårhvedesorterne Kolibri og Sappo
Content of total nitrogen (TN), basic amino acids (BAA), and lysine plus dye binding capacity on the basis of these components for the spring wheat cultivars Kolibri and Sappo

Egenskab Property	Sort Cultivar	Resultater Results		
TN (%)	Kolibri	2,41	2,63	2,98
	Sappo	2,42	2,73	2,98
BAA(μmol/mg N)	Kolibri	3,89	3,89	3,70
	Sappo	3,74	3,69	3,55
Lysin (μmol/mg N)	Kolibri	1,15	1,14	1,06
	Sappo	1,11	1,08	1,01
Farvebinding:				
Dye binding capacity:				
μmol/mg N	Kolibri	4,79	4,59	4,31
	Sappo	4,58	4,32	4,15
μmol/μmol BAA	Kolibri	1,23	1,18	1,16
	Sappo	1,23	1,17	1,17
μmol/μmol lysin	Kolibri	4,15	4,03	4,05
	Sappo	4,12	4,01	4,12

Tabel 6. Indhold af totalkvælstof (TN), basiske aminosyrer (BAA) og lysin samt farvebinding på basis af disse komponenter for rugsorterne Kongs og Petkus
Content og total nitrogen (TN), basic amino acids (BAA), and lysine plus dye binding capacity on the basis of these components for the rye cultivars Kongs and Petkus

Egenskab <i>Property</i>	Sort <i>Cultivar</i>	Resultater <i>Results</i>		
TN (%)	Kongs	1,33	1,52	1,69
	Petkus	1,35	1,53	1,74
BAA ($\mu\text{mol}/\text{mg N}$)	Kongs	4,93	4,80	4,66
	Petkus	4,78	4,71	4,44
Lysin ($\mu\text{mol}/\text{mg N}$)	Kongs	1,86	1,75	1,66
	Petkus	1,80	1,71	1,60
Farvebinding: <i>Dye binding capacity:</i>				
$\mu\text{mol}/\text{mg N}$	Kongs	6,64	6,14	5,86
	Petkus	6,41	5,97	5,65
$\mu\text{mol}/\mu\text{mol BAA}$	Kongs	1,35	1,28	1,26
	Petkus	1,34	1,27	1,27
$\mu\text{mol}/\mu\text{mol lysin}$	Kongs	3,57	3,51	3,53
	Petkus	3,56	3,50	3,54

forskellige proteinindhold, uanset de efter Kjeldahlmetoden udviser samme indhold. Således vil prøver af vårhvedesorterne Kolibri og Sappo med samme TN-indhold ifølge de fundne regressionsligninger få tillagt en forskel på ca. 0,9% protein, medens rugsorterne Kongs og Petkus tilsvarende vil få tillagt en forskel på ca. 0,4% protein.

En vis berettigelse af disse forskelle kan muligvis findes i, at det er sorterne med det højeste indhold af BAA, herunder lysin, som får tillagt det højeste proteinindhold.

Konklusion

Ud fra resultaterne af nærværende undersøgelse synes farvebindingsmetoden at være anvendelig til bestemmelse af proteinindhold i kornarternes kerne, hvor der ikke kræves en bestemmelse via en eksakt TN-analyse.

Da koncentrationen af basiske aminosyrer i proteinet er forskelligt fra kornart til kornart, må der anvendes særskilt grundlag for omregningen fra farvebinding til proteinindhold for hver kornart.

Inden for samme art synes forskellige forhold at kunne bevirke systematiske afvigelser mellem farvebindingsmetoden og Kjeldahlmetoden. Der

fandtes nogen afvigelse i farvebindingen fra år til år i relation til koncentrationen af TN, men det kan ikke udelukkes, at afvigelserne har analytiske årsager, da det var vanskeligt at reproducere farvebindingsmålene ved genanalysering.

Uanset årsagerne til de fundne afvigelser må det anses for nødvendigt til stadighed at kontrollere sammenhængen mellem farvebindingsmetoden og Kjeldahlmetoden.

Der synes at kunne forekomme mindre afvigelser mellem sorter af samme art med hensyn til farvebinding i relation til indhold af TN, sandsynligvis som følge af forskelle i koncentrationen af basiske aminosyrer i proteinet. Sådanne forskelle medfører, at sorterne får tillagt forskelligt proteinindhold efter farvebindingsmetoden, uanset om de har samme indhold efter Kjeldahlmetoden.

Farvebindingen synes påvirkelig at stivelse og træstof (skaldele). Indflydelsen af stivelse er tilsyneladende så lille, at den er uden betydning for metodens resultater, hvorimod indflydelsen af skaldelene fandtes så stor, at det vil influere på resultaterne.

Selv om det anvendte materiale i undersøgelsen har været varieret med hensyn til høstår, dyrkningssteder, sorter og N-tilførsel, er det tæn-

keligt, at der i praksis kan findes endnu større variationer, hvorfor yderligere erfaringsgrundlag er ønskeligt.

Litteraturliste

- »Arbejdsmetoder« (1958). I Del: Kemiske undersøgelser af mælk og mejeriprodukter m.m. samt foderstoffer.
- Bengtsson, A. & Eggum, B.O. (1969). Virkningen af stigende N-gødskning på havre- og bygproteinets kvalitet. Tidsskr. f. Planteavl 73, 105-114.
- Björklund, L. (1971). Rapport från proteinundersökningar. Besprutning med näringslösningar i växande gröda. Rapporter från avdelningen för Växtnäringslära. Lantbrukshögskolan. Uppsala. Nr. 35.
- Dahl, B. (1973). Undersøgelser over lagertilstanden i dansk-avlet foderkorn. Beretning nr. 64. Forskningsinstitutet for Handels- og Industriplanter, 3-19.
- Doll, H. (1973). Forædling for bedre proteinkvalitet i kornarterne. Ugeskrift for agronomer og hortonomer 2, 377-392.
- Fajersson, F. (1966). Vergleichende Untersuchungen mit dem Prometer und der Kjeldahl-Methode mit Rücksicht auf Sorten-, Düngungs- und Jahrgangsunterschiede. Getreide und Mehl 16, 2-5.
- Greenaway, W.T. (1972). Comparison of the Kjeldahl, dye-binding, and biuret methods for wheat protein content. Cereal Chem. 49, 609-615.
- Gullord, M. (1974). The dye binding capacity method (DBC-method) for determination of basic amino acids in protein. Melding nr. 184 fra Norges Landbrukshøgskole. Institutt for plantekultur vol. 53, nr. 8, pp 21.
- Hummel-Gumælius, T. (1974). Kvalitetsinventering på fodersäd av 1973 års skörd. Sveriges Utsädesförening Tidskrift 84, 241-259.
- Jacobsen, E.E.; Møller, A.; Juul Nielsen, J.; Schmidtsdorff, W. & Weidner, K.E. (1972). Evaluation of the dye binding method as a tool for practical check of fishmeal quality. Manuskript. IAFFM Fishmeal Conference in Rome 17 pp.
- Mortensen, J. (1976). Om anvendelse af farvebindingsmetoden til bestemmelse af proteinindhold i græsmarksplanter. Tidsskr. f. Planteavl.
- Mossberg, R. (1965). Some problems concerning the determination of crude protein content in cereals by dye binding. Agri Hort. Gen. 23, 206-218.
- Mossberg, R. (1968). The correlation between dye binding capacity (DBC) and basic amino acids (BAA) in cereals. Agri Hort. Gen. 26, 78-81.
- Munck, L.; Karlsson, K.E.; Hagberg, A. & Eggum, B.O. (1970). Gene for improved nutritional value in barley seed protein. Science 168, 985-987.
- Steenbjerg, F.; Larsen, I.; Jensen, I. & Bille, S. (1972). The effect of nitrogen and simazine on the dry-matter yield and amino acid content of oats and on the absorption and utilization of various plant nutrients. Plant and Soil 36, 475-496.
- Udy, D.C. (1956). Estimation of protein in wheat and flour by ionbinding. Cereal Chem. 33, 190-197.
- Viuf, B.T. (1972). Varietal differences in nitrogen content and protein quality in barley. Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles årsskrift 1972. 37-61.

Manuskript modtaget 21. februar 1977.