

184de Beretning fra Forsøgslaboratoriet.

**Carotinbestemmelse ved Hjælp af
Pulfrich-Fotometer.**

Af Aage Lund.

Udgivet af Den kgl. Veterinær- og Landbo-
højskoles landøkonomiske Forsøgslaboratorium.

København.

I Hovedkommission hos fh. August Bangs Forlag,
Ejvind Christensen.

Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri, Howitzvej 49.

1939.

STATENS HUSDYRBRUGSFORSØG

Statens Husdyrbrugsudvalg

- Forstander *H. J. Rasmussen*, København, *Formand*,
Gaardejer *M. K. Gram*, Københoved, Skodborg,
valgte af De samvirkende danske Landboforeninger.
Gaardejer *H. P. Nielsen*, Danehøj, Store-Heddinge,
Parcellist *H. J. Hansen*, Elborg, Tavlov,
valgte af De samvirkende danske Husmandsforeninger.
Gaardejer *N. Nielsen*, Højgaard, Ringsted, *Næstformand*,
valgt af Det kgl. danske Landhusholdningsselskab.
Gaardejer *M. Byriel*, Lyngby, Sporup,
valgt af Landsudvalget for Svineavlens Ledelse.
Statskonsulent *W. A. Kock*, Charlottenlund, København,
valgt af Statens Fjerkræudvalg.
- Udvalgets Sekretær: Forstander, cand. polyt. *A. C. Andersen*.

Landøkonomisk Forsøgslaboratorium

Dyrefysiologisk Afdeling

- Forstander: Professor *Holger Møllgaard*,
Forsøgsleder: Landbrugskandidat, Dr. agro. *Aage Lund*,
— cand. polyt. *A. K. A. Græsholm*.

Husdyrbrugsafdelingerne

Forsøg med Kvæg:

- Forstander: Professor *L. Hansen Larsen*,
Forsøgsleder: Landbrugskandidat *H. Wenzel Eskedal*,
— Landbrugskandidat *V. Steensberg*,
Beregner: Landbrugskandidat *P. S. Østergaard*.

Forsøg med Svin, Fjerkræ og Heste m. m.:

- Forstander: Professor *Johs. Jespersen*,
Forsøgsleder: Landbrugskandidat *Fr. Haagen Petersen*,
— Landbrugskandidat *Dr. Hjalmar Clausen*,
— Landbrugskandidat *J. Bælum*.

Kemisk Afdeling (herunder Statens Foderstofkontrol)

- Forstander: cand. polyt. *A. C. Andersen*,
Afdelingsleder: cand. polyt. *J. E. Winther*,
Inspektør ved Foderstofkontrollen: cand. polyt. *J. Gredsted Andersen*.

Kontor og Sekretariat

- Leder: Forstander, cand. polyt. *A. C. Andersen*,
Sekretær: Landbrugskandidat *Holger Ærsøe*.

Udvalgets, Forsøgslaboratoriets og Afdelingernes Adresse er:
Rolighedsvej 25, København V.

Til

Statens Husdyrbrugsudvalg.

Under Henvisning til de Forhandlinger, der blev ført paa Statens Husdyrbrugsudvalgsmøde den 22. Marts d. A., tillader jeg mig herved at anmode om, at medfølgende Afhandling om Carotinbestemmelse ved Hjælp af Pulfrich-Fotometer af Forsøgsleder, Dr. *Aage Lund* optages i Forsøgslaboratoriets Beretninger.

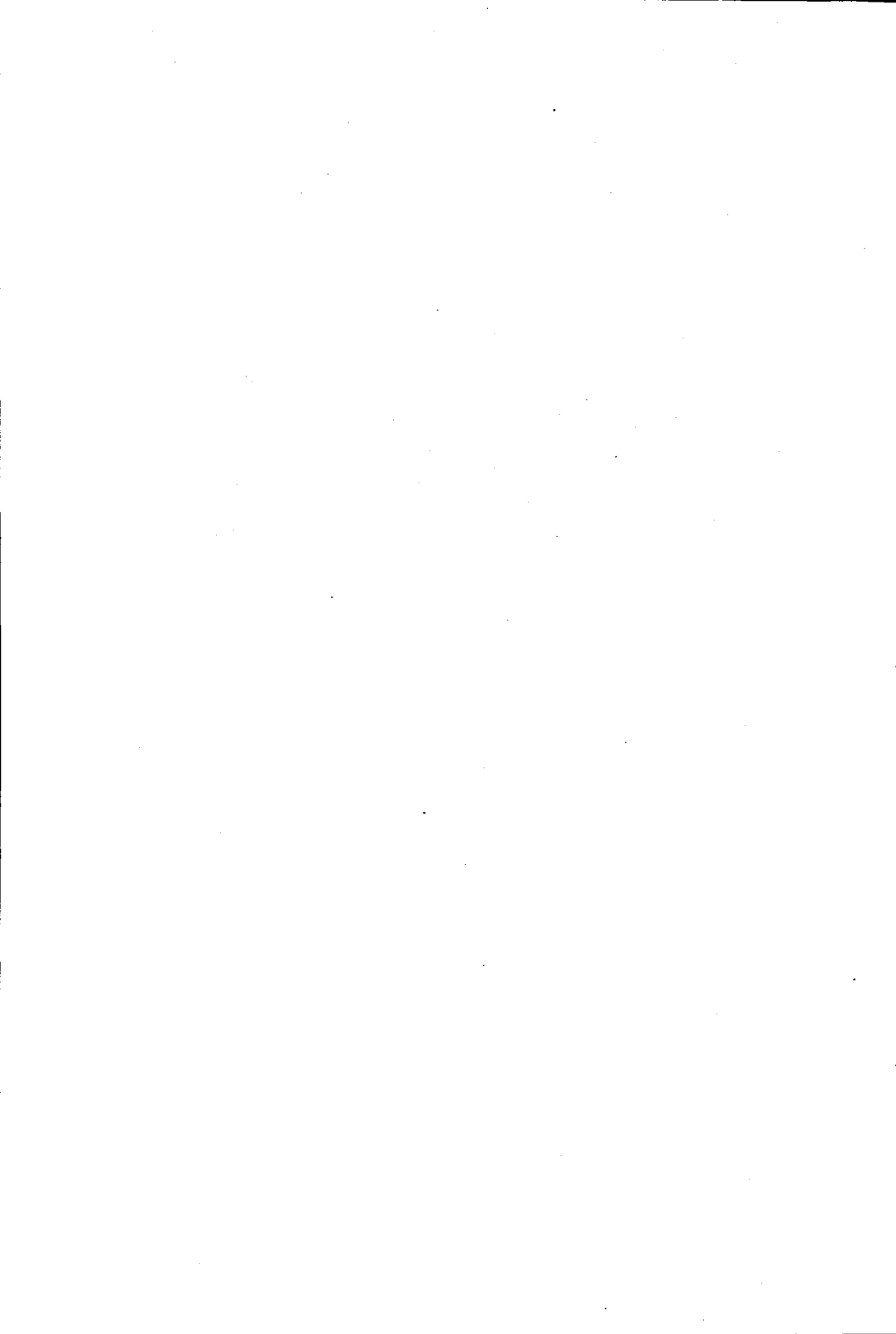
København, April 1939.

Ærbødigt
Holger Møllgaard.

Ovennævnte Beretning har været forelagt Statens Husdyrbrugsudvalg og er godkendt til Offentliggørelse i Forsøgsvirksomhedens Publikationer.

København, Maj 1939.

H. J. Rasmussen,
Formand.



Carotinbestemmelse ved Hjælp af Pulfrich-Fotometer.

En Analyse af Carotininholdet i Fodermidler etc. foretages i Princippet paa den Maade, at man paa passende Maade ekstraherer Carotinet af Analyseprøven og efter at have befriet Raackstrakten for Urenheder, især andre Carotinoider, der kan influere paa Maalingen, maa-ler man Carotininholdet i den rensede Ekstrakt.

Denne Maaling af Carotinet kan foretages paa en af følgende Maader:

- 1) Kolorimetrisk,
- 2) Spektrofotometrisk,
- 3) Spektrografisk.

Alle disse Metoder beror i Realiteten paa det samme Princip, nemlig at man søger at maale Carotinopløsningens Lysabsorption, eller rettere Absorptionen af Lys i et bestemt mere eller mindre snævert afgrænset Bøgeomraade.

Ved de kolorimetriske Metoder bestemmer man Farveintensiteten af Carotinopløsningen ved Sammenligning med Opløsninger med kendt Farveintensitet. Som Standardvædske bruges kun sjældent Carotinopløsninger med kendt Carotininhold, da disse i Almindelighed er ret vanskelige at fremskaffe, og er lidet holdbare. Som brugbare Standardopløsninger angiver *Willstätter & Stoll* (1913) en Kaliumdikromatopløsning, medens *Kuhn & Brockmann* (1932) især til Brug ved Bestemmelser af mindre Carotinmængder anbefaler en Opløsning af Azobenzol i Alkohol.

Selve Bestemmelsen foregaar i et Kolorimeter, hvoraf der findes en Del forskellige Typer, som dog næsten alle er indrettet efter det

Princip, at man søger at finde hvilken Lagtykkelse af Analyseopløsningen, Lyset skal passere, for at opnaa samme Farveintensitet som ved at passere gennem en bestemt Lagtykkelse af Standardopløsningen.

En særlig Art Kolorimeter, der benyttes en Del bl. a. i England, ogsaa ved Carotinbestemmelser, er det saakaldte Lovibond-Tintometer, hvor man ikke bruger en Standardvædske, men farvede Glas ved Sammenligningen af Farveintensiteten.

I alle Tilfælde, hvor man benytter Kolorimeter til Carotinanalysen, maa man ved Kontrolanalyser af rene Carotinopløsninger skaffe sig Omregningskurver til Brug for Omregningen af de paa Kolorimetret aflæste Værdier til Carotinkoncentrationer.

Ved de spektrofotometriske Metoder er Princippet det, at man maaler Lysabsorptionen ved en bestemt Bølgelængde i et Spektrofotometer, og ved Hjælp af den ved Kontrollforsøg bestemte Absorption for det rene Carotin beregner man Koncentrationen. Fremgangsmaaden er den, at en Lysstraale af monochromatisk Lys ved en særlig Anordning deles i to ens Halvdele, hvoraf den ene gaar gennem Analyseopløsningen, medens den anden gaar gennem et lige saa stort Lag af Opløsningsmidlet. Man betragter begge de udtrædende Lysstraaler, og ved en særlig optisk Indretning svækker man Intensiteten af den anden Lysstraale (der gik gennem Opløsningsmidlet), indtil begge Lysstraaler viser samme Lysstyrke. Den foretagne Svækkelse af det Lys, der er gaaet gennem Opløsningsmidlet kan man aflæse paa Apparatet, og den er et Maal for Absorptionen i Analyseopløsningen.

Efter dette Princip er bl. a. Pulfrich-Fotometret bygget. Da det er dette Apparat, der er benyttet til de Undersøgelser, der beskrives i tredje Kapitel, skal Apparatet og den benyttede Fremgangsmaade ved Analysen beskrives nærmere her.

Pulfrich-Fotometret bestaar af to parallelt anbragte Kikkertor med fælles Okular. Ser man ind i Okularet, er Synsfeltet ved en lodret Skillelinie delt i to Halvdele, der hver bliver belyst gennem sin Kikkert. Umiddelbart foran Okularet er der anbragt en Revolverskive, hvori der kan anbringes en Række Farvefiltre, der skiftevis kan indbringes i Straalegangen og gøre det maalte Lys tilnærmelsesvist monochromatisk. I hvert Kikkertør er der anbragt en Maaleanordning, der bestaar af en indstillelig Blende, saaledes at man ved Drejning paa en inddelt Tromle kan blænde mere eller mindre af for Lyset. Paa

Tromlens Inddelinger kan man aflæse Afblandings Størrelse. Foran hver Kikkertaabning findes en Kuvetteholder med Plads til Glaskuvetter. I den ene Kuvette anbringes Analyseopløsningen, medens den anden fyldes med en Kompensationsvæske (f. Eks. Opløsningsmidlet). En særlig Fotometerlampe udgør Belysningen.

Fig. 1 a viser Fotometret og Fotometerlampen anbragt paa en saakaldt optisk Bænk.

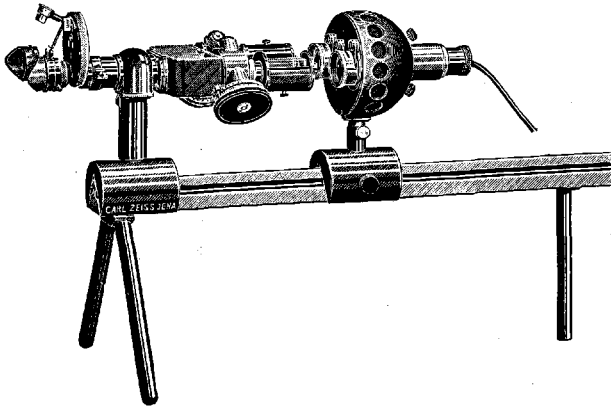


Fig. 1 a. Pulfrich-Fotometer.*)

Paa Fig. 1 b ses et Skema af Straalegangen i Fotometret. Lysstraalearne fra Lampen passerer paa hver Side fra Aabningen i Lampehuset gennem Glaskuvetten, herfra gennem Blænden og Kikkertens Linse og Prisme gennem Farvefiltret til Okularet, hvor Straalearne fra de to Straalegange hver belyser sin Halvdel af Synsfeltet, adskilt ved en skarp Skillelinie. Maalingen af Lysabsorptionen foregaar da paa den Maade, at man fylder den ene Kuvette (f. Eks. den højre) med Analyseopløsningen og den anden med Opløsningsmidlet. En Del af Lyset, der passerer Analyseopløsningen, vil nu absorberes, saaledes at den Halvdel af Synsfeltet, der belyses herigenem, ses mørkere end den Halvdel, der faar Lys gennem Kompensationskuvetten. Ved Drejning paa Maaletromlen paa den Side, hvor Kompensationskuvetten sidder, afblænder man nu Lyset i den lyse

*) Klichéerne til Fig. 1 a og 1 b er velvilligst stillet til Raadighed af Firmaet Carl Zeiss, Jena.

Synsfelthalvdel, indtil hele Synsfeltet er ensartet belyst. Lyset er da svækket lige meget i begge Halvdele, paa den ene Side ved at passere gennem Analyseopløsningen, paa den anden Side ved Afblandingen, og man kan paa Maaletromlens Inddelinger aflæse hvormeget Afblandingen andrager, d. v. s., hvor stor Absorptionen er. Som Udtryk for Lysabsorptionen bruger vi Betegnelsen Extinktionen. Denne Betegnelse skal der gives en nærmere Forklaring paa.

Hvis I_0 betegner Intensiteten af det Lys, der falder ind i et Væskelag, og I er Intensiteten af Lyset, efter at det har passeret

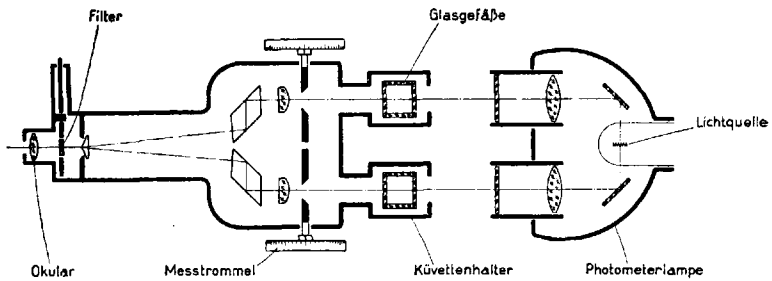


Fig. 1 b. Straalegang i Pulfrich-Fotometer.

Væskelaget, saa forstaar man ved Extinktionen den negative Logaritme til Forholdet mellem den udtrædende og indtrædende Lysmængde, d. v. s.

$$E = - \log \frac{I}{I_0}$$

Grunden til, at man ikke simpelthen bruger Forholdet mellem den ud- og indtrædende Lysmængde, men Logaritmen til dette Forhold, er den, at man herved opnaar Tal, der er lettere at regne med. Ligningen for *Lamberts Lov*, der udtrykker Absorptionens Afhængighed af Lagtykkelsen, ser nemlig saaledes ud:

$$1) \quad I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon \cdot d}$$

hvor ϵ er *Extinktionskoefficienten* (d. v. s. Extinktionen for en Lagtykkelse paa 1 cm), og d er Lagtykkelsen maalt i cm.

Ligningen kan skrives:

$$2) \quad \frac{I}{I_0} = 10^{-\epsilon \cdot d}$$

og logaritmeres denne Ligning faas

$$3) \quad \log \frac{I}{I_0} = -\epsilon \cdot d$$

eller

$$4) \quad \epsilon = \frac{1}{d} \left(-\log \frac{I}{I_0} \right) = \frac{1}{d} \cdot E$$

Lamberts Lov siger altsaa, at Extinktionen for samme Opløsning er proportional med den Lagtykkelse, hvori Extinktionen maales.

Da nu endvidere *Beers Lov* siger, at Extinktionen er proportional med Koncentrationen, saa faar vi ved Kombination af disse to Love den *Lambert-Beer'ske Absorptionslov*:

$$5) \quad E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = \frac{E}{d \cdot c},$$

hvor $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$ er *Extinktionskoefficienten* for en 1 % Opløsning og c er Koncentrationen udtrykt i pCt.

Paa Fotometrets Maaletromle aflæser man direkte E for den undersøgte Opløsning.

De spektrografiske Metoder bestaar deri, at man ved Hjælp af en Spektrograf maaler Absorptionen i et bredere Bølgeomraade og optegner en saakaldt Absorptionskurve, af hvis Beliggenhed i Koordinat-systemet man kan bestemme Koncentrationen af Carotinet. Ogsaa her bestemmer man altsaa Carotinoopløsningens Extinktion, og Metoden fordrer, at man ved Kontrollforsøg har bestemt det rene Carotins Extinktionskoefficient.

Den spektrografiske Absorptionsmaalings Princip er det, at det fra en Lyskilde kommende Lys deles i to Lysstraaler, der har sammé

Intensitet; disse Lysstråler afbilder man lige under hinanden paa Spektrografens Spalte. De to Stråler frembringer derved efter Exposition paa den fotografiske Plade to Spektre, der staar tæt op mod hinanden.

I den øverste Straalegang anbringer man en Kuvette med Analyseopløsningen, medens man i den nederste Straalegang anbringer en Kompensationskuvette med Opløsningsmidlet. Desuden anbringes i den nederste Straalegang en roterende Sektor, der tillader at svække Lysintensiteten med en kendt Størrelse.

Paa den fotografiske Plade faar man saaledes et Absorptionspektrum og et Sammenligningsspektrum lige under hinanden, og man fotograferer desuden ogsaa en Bølgelængdeskala med ind paa Pladen. Man finder nu, ved hvilken Bølgelængde Fotografiet af de to Spektre er svartet lige stærkt, og man ved da, at paa dette Sted er Analyseprøvens Absorption ved den benyttede Lagtykkelse ligesaa stor som den kendte Svækkelse, som Sektoren har bevirket i Sammenligningsspektret.

Da nu Absorptionen er forskellig ved forskellige Bølgelængder, maa man, for at faa Absorptionskurven bestemt, gaa frem paa den Maade, at man tager en Række saadanne Dobbelt-spektre efter hinanden (paa samme Plade under hinanden) enten for samme Lagtykkelse, men med varierende Sektoraabning, eller — hvad der er det almindeligste — man benytter konstant Sektoraabning og varierer Lagtykkelsen.

Af praktiske Grunde plejer man at optegne Absorptionskurven paa den Maade, at man som Abscisse benytter Bølgelængden og som Ordinat Logaritmen til Extinktionskoefficienten ($\log \epsilon$). Man opnaar nemlig herved, at Absorptionskurvens Form er uafhængig af den Koncentration ved hvilken Maalingen er foretaget. Man plejer da ogsaa at variere Lagtykkelsen logaritmisk, hvorved man opnaar praktiske Fordele ved Udmaalingen og Optegnelsen af Absorptionskurven.

Et Eksempel paa en saadan Absorptionskurve for Carotin findes i Fig. 2 og 3, hvor Fig. 3 er en Kopi af selve den fotografiske Plade, medens Fig. 2 gengiver den deraf aflæste Absorptionskurve. Det skal endnu bemærkes, at medens de ovenfor anvendte Symboler er de, der almindeligst benyttes i engelsk Litteratur, saa benyttes i tysk Litteratur oftest andre Symboler. I omstaaende Oversigt er anført de oftest anvendte af disse.

	Engelsk	Tysk
Extinktionen	E	E
Extinktionen for 1 cm Lagtykkelse (Extinktionskoefficienten)	ϵ	k
Extinktionskoefficient for en 1 % Opløsning	$E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$	
molær Extinktionskoefficient		z

Medens E, ϵ , k og $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$ alle angives som Briggske Logaritmer, angives z som naturlig Logaritme, altsaa svarende til Ligningen

$$\frac{I}{I_0} = e^{-z \cdot c \cdot d}$$

hvor z er den molære Extinktionskoefficient, c er Koncentrationen i Mol pr. l, og d er Lagtykkelsen i cm.

Tidligere Bestemmelser af Carotinet's Extinktion.

Den første Bestemmelse af Carotinet's Extinktion har jeg fundet hos *Schertz* (1923), der har benyttet et rent Carotinpræparat. Paa det Tidspunkt var Carotinet endnu ikke delt i de tre isomere α -, β - og γ -Carotin, men efter sin Oprindelse maa det benyttede Præparat antages at have bestaaet hovedsagelig af β -Carotin. Der brugtes et König-Martens Spektrofotometer, og Extinktionen maales ved 435,8 $m\mu$. Extinktionen fandtes at følge Beers Lov, og $E_{1 \text{ cm}, 435,8 m\mu}^{\text{cg pr. l}}$ fandtes til 1,91 for Carotin opløst i Alkohol og i Petrolæter, og til 1,986 for Carotin opløst i Ætylæter.

Pummerer & Rebmann (1928) og *Pummerer, Rebmann & Reindell* (1929) angiver en Extinktionskurve for Carotin i Cyklohexan, der viser Maximum ved ca. 450 $m\mu$: $\log \epsilon = 5,07$, svarende til $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 2200$.

Zechmeister (1934) anfører bl. a. Kurver efter *Kuhn*, der viser følgende Værdier:

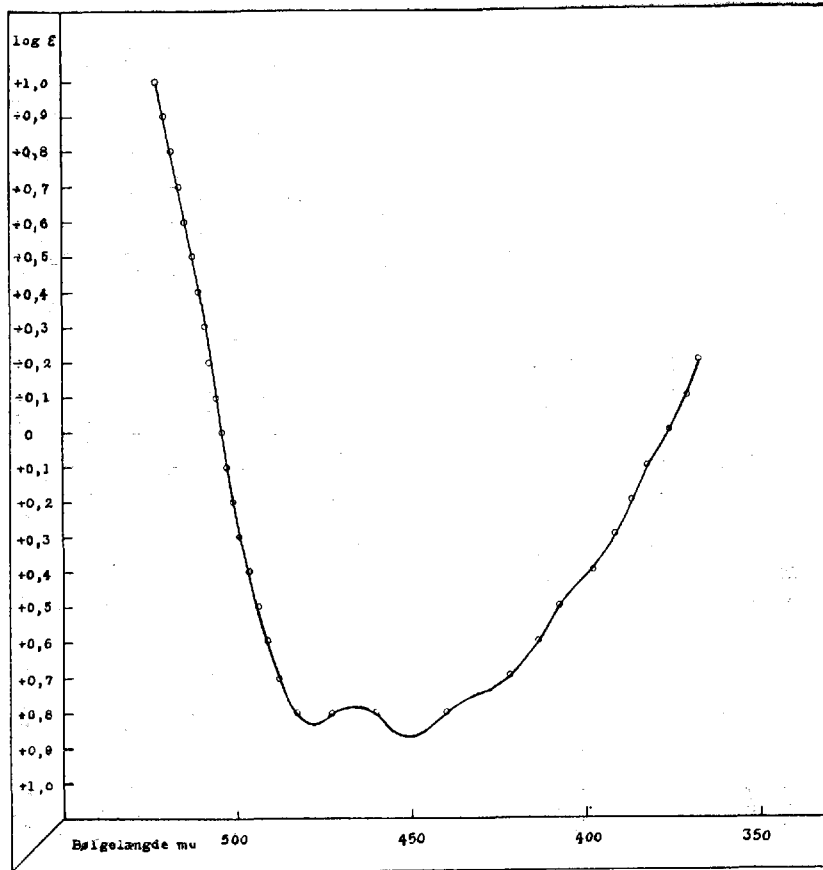


Fig. 2. Absorptionskurve for β -Carotin.

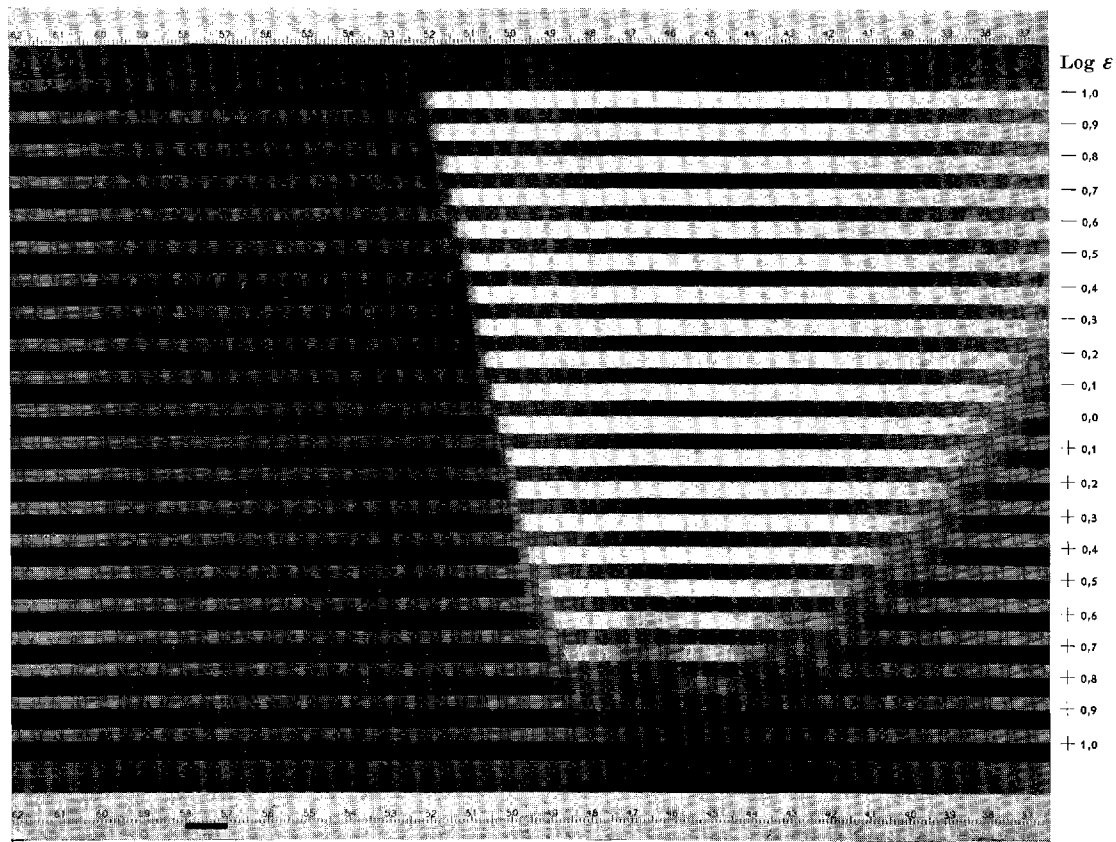


Fig. 3. Absorptionsspekter af β -Carotin.

	$\kappa_{\text{Max.}}$	svarer til $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$
β Carotin i Hexan	$37,0 \times 10^4$	3000
β Carotin i Svovlkulstof	$30,0 \times 10^4$	2430
α Carotin i Hexan	$33,5 \times 10^4$	2710
α Carotin i Svovlkulstof	$27,0 \times 10^4$	2190
γ Carotin i Hexan	$34,2 \times 10^4$	2770
γ Carotin i Svovlkulstof	$26,1 \times 10^4$	2120

Det ses saaledes, at Extinktionskoefficienten er stærkt afhængig af Opløsningsmidlet.

Bernegg, Heierle & Almasy (1935) har foretaget spektrometriske Maalinger af et »næsten rent« β -Carotinpræparat og anfører Kurver, hvoraf kan aflæses $\log \epsilon_{\text{Max.}} = 5,08$ (Opløsningsmiddel Hexan) svarende til $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 2240$. For samme Carotin opløst i Æter faas $\log \epsilon = 5,05$ svarende til $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 2100$.

Miller, Mackinney & Zschele jr. (1935) og Miller (1937) har foretaget omhyggelige Maalinger af Absorptionsspektre for α - og β -Carotin med fotoelektrisk Spektrofotometer. Carotinet opløstes i 20 % Ætylæter og 80 % Ætylalkohol.

Extinktionen $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$ var følgende:

Bølgelængde Å	α -Carotin	β -Carotin
4800		2220
4750	2315	
4525		2490
4460	2750	

Hume & Chick (1935) anfører efter Dann $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 2495$ for rent β -Carotin, uden nogen Angivelse af Opløsningsmidlet.

Gillam (1935) angiver følgende Maxima: for β -Carotin i Kloroform $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 2200$ og for β -Carotin i Petrolæter $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 2500$.

Halden & Unger (1936) bestemte ϵ med Pulfrichfotometer under Benyttelsen af 5 cm's Mikrokuvetter og Filter S. 47. Resultatet ses omstaaende:

mg Carotin pr. 100 ml Petrolæter	ϵ
0,0874	0,959
0,0546	0,590
0,0349	0,372
0,0218	0,222
0,0175	0,174
0,0087	0,084

Smith (1936) benyttede et fotoelektrisk Spektrofotometer. Han maalte Extinktionen i et rent β -Carotinpræparat (fremstillet af Gulerødder, rensset ved Adsorption og derpaa gentagne Omkrystallisationer) opløst i 20 % Æter og 80 % Alkohol. Log ϵ_{Max} fandtes til 5,125, svarende til $E_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 2490$.

Petersen, Hughes & Freemann (1937) angiver følgende Extinktionskoefficienter for β -Carotin ($E_{1 \text{ cm}}^{\text{g pr. 1}}$):

Bølgelængde m μ	Opløsningsmiddel	
	Petrolæter Kp. 40–60	Skellysolve B*) Kp. 60–70
450	243	238
455	231	227
470	207	200
480	212	212

Egne Forsøg.

Forsøg med Pulfrich-Fotometer.

Forsøgene er udført med β -Carotin leveret fra Hoffmann-La Roche i Basel i tilmelte Ampuller indeholdende 0,01 g Carotin. Forsøgene er foretaget paa den Maade, at en afvejet Mængde Carotin er opløst i Benzin i Maalekolbe med tilslebet Glasprop under forsigtig Opvarmning, og Kolben er fyldt op til Mærket. Af denne Stamopløsning er der foretaget en Række Fortyndinger. For at undgaa en Justering af Maalekolber og Pipetter med Benzin, er Fortyndingen foretaget efter Vægt, idet der af Stamopløsningen er udtaget en vis Vægtmængde

*) En særlig standardiseret Petrolæter.

— bestemt ved Vejning af Kolben med Stamopløsningen før og efter Udtagningen — som er ført over i en anden Maalekolbe, der er fyldt op med Benzin og vejat. Ved Hjælp af disse Vejninger og Benzinens Vægtfylde er Mængden af Carotin pr. 100 ml Benzin beregnet.

Alle Fortyndingerne indenfor samme Serie er fremstillet paa en Gang, umiddelbart efter at den afvejede Mængde Carotin er blevet opløst, og Maalingen af Extinktionen er derefter paabegyndt straks og er tilendebragt samme Dag. I enkelte Tilfælde har jeg den følgende Dag foretaget en ny Række Maalinger af enkelte af Prøverne, hvorved det viste sig, at Prøvernes Extinktion ikke havde ændret sig.

Fortyndingerne er valgt saaledes, at det hver Gang har været muligt at foretage Maalingen af E i forskellige Lagtykkelser. De forhaandenværende Kuvetter tillader Maaling i følgende Lagtykkelser: 3 cm, 2 cm, 1 cm og 0,5 cm. Jeg har ikke maalt alle Prøverne i alle de paagældende Lagtykkelser. Dette vilde nemlig medføre en Begrænsning af det Koncentrationsomraade, der kunde arbejdes i, da Maaleusikkerheden er mindst ved Extinktioner mellem 0,5 og 1,0, og man ikke bør gaa udover Størrelser af E paa over 1,3 eller under 0,15.

I de fleste Tilfælde er Maalingerne foretaget saavel med Filter S. 43 og S. 47 som med S. 45. Dette sidste anser jeg for at være det heldigste at anvende ved Maaling af Carotin i Benzinopløsning, ikke blot fordi dets virksomme Maksimumsgennemskinnelighed (Durchlässigkeit) svarer bedst til Carotinets maximale Absorption, der i Benzin ligger ved 450 $m\mu$, men især fordi Absorptionskurven fordeler sig praktisk talt ensartet paa begge Sider af dette Maximum indenfor den virksomme Filterbredde.

Naar jeg har valgt at foretage Maalingerne ikke alene med det mest hensigtsmæssige Filter, men ogsaa med de to nærmeste Filtre til begge Sider, saa skyldes det Hensynet til Sammenligningen med andre i Litteraturen forekommende Angivelser af E maalt paa Pulfrich-Fotometer, idet disse Angivelser oftest angaar Maalinger udført med Filter S. 43 eller S. 47. Grunden hertil er formentlig den, at Filter S. 45 er relativt nyt, og ikke normalt hører til den Sats Filtre, der leveres med Fotometret, saaledes at en Del af de Fotometre, der anvendes rundt omkring, ikke er i Besiddelse af dette Filter.

Den anvendte Benzin har i de to første Forsøgsserier været »Benzin med Kogepunkt under 70°«, saaledes som den anvendes ved Fedtbestemmelse i Mælk efter Gottlieb-Røse Metoden, medens jeg i

Tabel 1.

22. Februar 1938. Extinktionen af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	E _{3 cm}			E _{2 cm}		
	S. 43	S. 45	S. 47	S. 43	S. 45	S. 47
0,254				1,046	1,258	1,209
0,173	1,047	1,275	1,219	0,710	0,881	0,849
0,145	0,880	1,073	1,019	0,617	0,748	0,726
0,127	0,795	0,954	0,917	0,538	0,650	0,630
0,102	0,638	0,763	0,738	0,442	0,524	0,514
0,086	0,539	0,643	0,612	0,375	0,465	0,448
0,072	0,463	0,552	0,526			
0,051	0,332	0,396	0,384			
0,029	0,191	0,227	0,222			

Tabel 2 a.

24. August 1938. Extinktionen af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	E _{3 cm}			E _{2 cm}		
	S. 43	S. 45	S. 47	S. 43	S. 45	S. 47
0,275				1,103	1,354	1,300
0,217				0,900	1,114	1,029
0,184	1,106	1,341	1,266	0,761	0,913	0,856
0,139	0,846	1,015	0,984	0,594	0,706	0,674
0,093	0,574	0,708	0,654	0,408	0,489	0,471

Tabel 2 b.

24. August 1938. Extinktionen af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	E _{1 cm}			E _{0,5 cm}		
	S. 43	S. 45	S. 47	S. 43	S. 45	S. 47
0,550	1,110	1,350	1,308	0,573	0,704	0,668
0,367	0,749	0,911	0,875	0,395	0,464	0,446
0,331	0,689	0,833	0,798	0,371	0,446	0,429
0,275	0,569	0,695	0,676	0,303	0,374	0,350
0,217	0,469	0,580	0,553	0,233	0,290	0,276
0,184	0,403	0,486	0,466	0,205	0,248	0,238
0,139	0,309	0,368	0,343	0,159	0,186	0,173
0,093	0,214	0,253	0,236	0,103	0,129	0,126

de to sidste Forsøgsserier har benyttet den mere veldefinerede »Benzin med Kogepunkt ved 65—70 °«, der nu fremstilles af Firmaet H. Struer i København, specielt til Carotinbestemmelse.

Resultatet af Maalingerne i de fire Forsøgsserier findes i Tabellerne 1—4. Hvert Tal for E i disse Tabeller er Middeltallet af 5 Aflæsninger foretaget med Analysekuvetten paa højre Side og 5 Aflæsninger med Analysekuvetten paa venstre Side i Fotometret.

Hvis Beers Lov gælder for Carotinopløsninger maalt i dette Fotometer, kan vi opstille følgende Ligning:

$$E^{1\%} = \frac{E}{c}$$

hvor E betegner den paa Fotometret aflæste Extinktion, og c er Koncentrationen i Procent (hvilket overalt i dette Arbejde betyder g pr. 100 ml Opløsning).

Tabel 3.

24. Januar 1939. Extinktionen af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	$E_{3\text{ cm}}$	$E_{2\text{ cm}}$	$E_{1\text{ cm}}$			$E_{0,5\text{ cm}}$
	S. 45	S. 45	S. 48	S. 45	S. 47	S. 45
0,915						1,103
0,555			1,086	1,319	1,376	0,695
0,459			0,901	1,103	1,061	0,574
0,367			0,764	0,907	0,878	0,463
0,222		1,064	0,465	0,557	0,534	0,281
0,112	0,813	0,552	0,247	0,293	0,281	

Tabel 4.

1. Februar 1939. Extinktionen af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	$E_{3\text{ cm}}$	$E_{2\text{ cm}}$	$E_{1\text{ cm}}$
	S. 45	S. 45	S. 45
0,424			1,014
0,225			0,557
0,108	0,798	0,536	0,271
0,091	0,660	0,436	0,220
0,068	0,499	0,335	
0,045	0,328	0,223	

Den Værdi for $E^{1\%}$, der bedst svarer til samtlige de for hvert Bølgelængdeinterval (Filter) og hver Lagtykkelse fundne sammenhørende Værdier for c og E finder vi lettest ved de mindste Kvadraters Metode. Ligningen for Beers Lov omskrives saaledes: $E = c \cdot E^{1\%}$, hvorved den antager Form af den almindelige Ligning $y = b_1 x$, hvor $y = E$, $x = c$ og $b_1 = E^{1\%}$, og vi beregner da paa sædvanlig Maade den Værdi for b_1 , der giver den mindste Værdi for Summen af Kvadraterne paa Afvigelserne mellem de fundne og de beregnede Værdier for E . Resultatet af denne Beregning af $E^{1\%}$ findes i Tabel 5.

Tabel 5.

Gennemsnitstal for Extinktionen af β -Carotin ved forskellig Lagtykkelse.

Lagtykkelse cm	$E^{1\%}$		
	S. 43	S. 45	S. 47
2,998	6,125	7,387	7,065
1,998	4,141	4,997	4,809
1,002	2,030	2,455	2,374
0,505	1,073	1,253	1,241

Tallene fra Tabellerne 1—4 er opført i Kurvetavlerne Fig. 4, 5 og 6, idet vi paa hver Kurvetavle har indføjet Tallene for samme Filter fra alle Forsøgsserierne. Som Abscisse anvendes Carotinkoncentrationen, som Ordinat Extinktionen. Den fuldt optrukne Linie er beregnet efter den i Tabel 5 angivne bedste Værdi for $E^{1\%}$ for de forskellige Filtre og Lagtykkelser. Det ses paa Kurverne, at de fundne Extinktioner ligger over den beregnede Linie for de lave Koncentrationer, medens de for de højere Koncentrationer ligger under Linien. Dette betyder, at Beers Lov ikke gælder fuldstændigt for Carotinopløsninger i Benzin maalt i Pulfrich-Fotometret.

Ser man paa Kurvetavlerne kan det se ud som om en retlinet Funktion, der ikke gaar gennem Nulpunktet i Koordinatsystemet, bedre end den simple Proportionalitetsligning repræsenterer de fundne Tal indenfor det maalte Omraade for E (fra 0,15—1,35). Jeg har derfor beregnet ogsaa Konstanterne for Ligningen $y = a + b_2 \cdot x$ for hele Materialet, hvilke Konstanter findes opført i Tabel 6. De af disse Konstanter beregnede Kurver er indtegnet punkteret paa Fig. 4, 5 og 6.

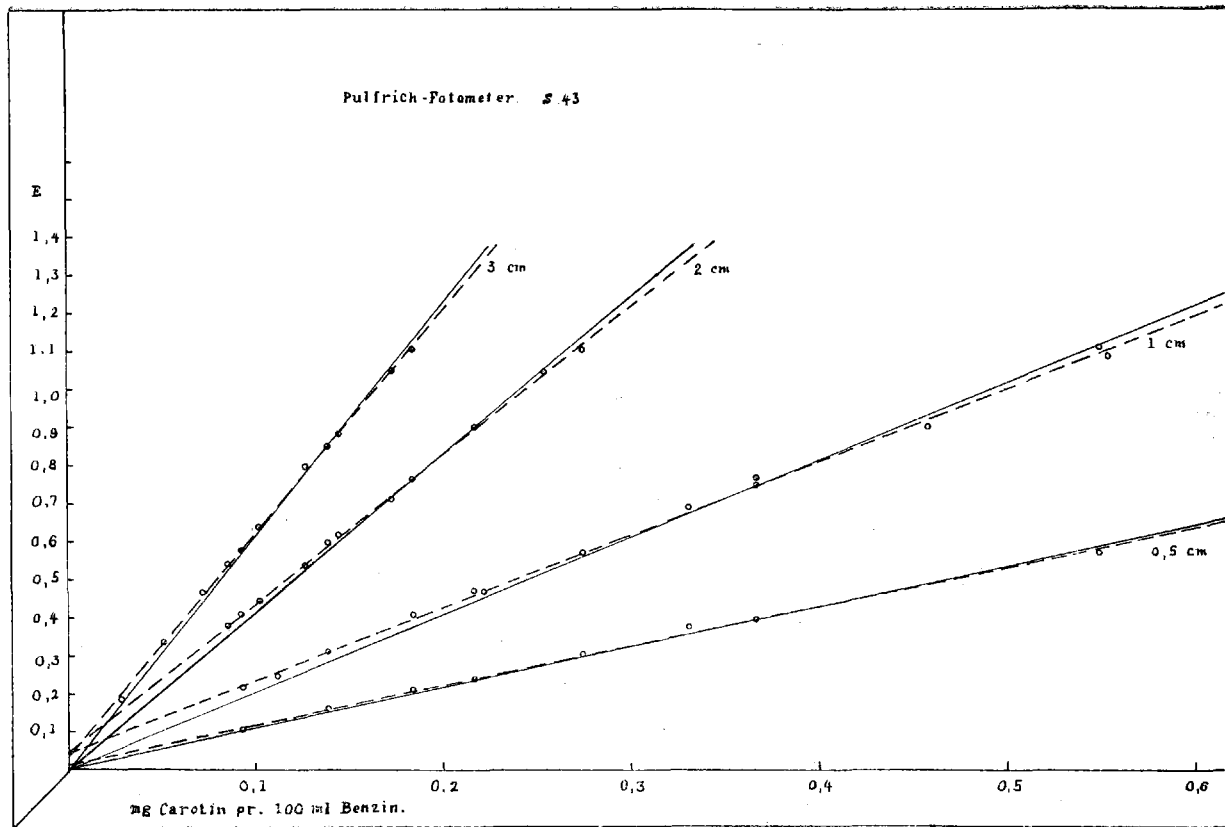


Fig. 4.

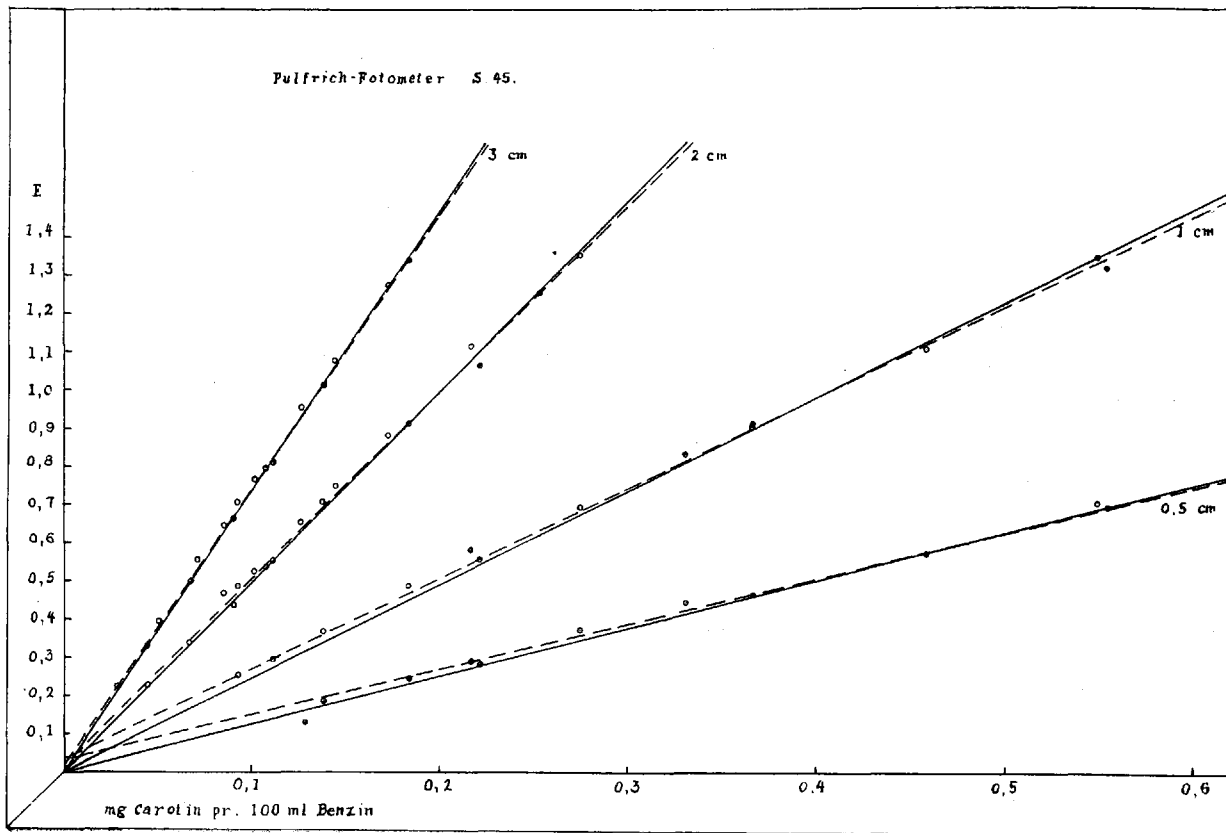


Fig. 5.

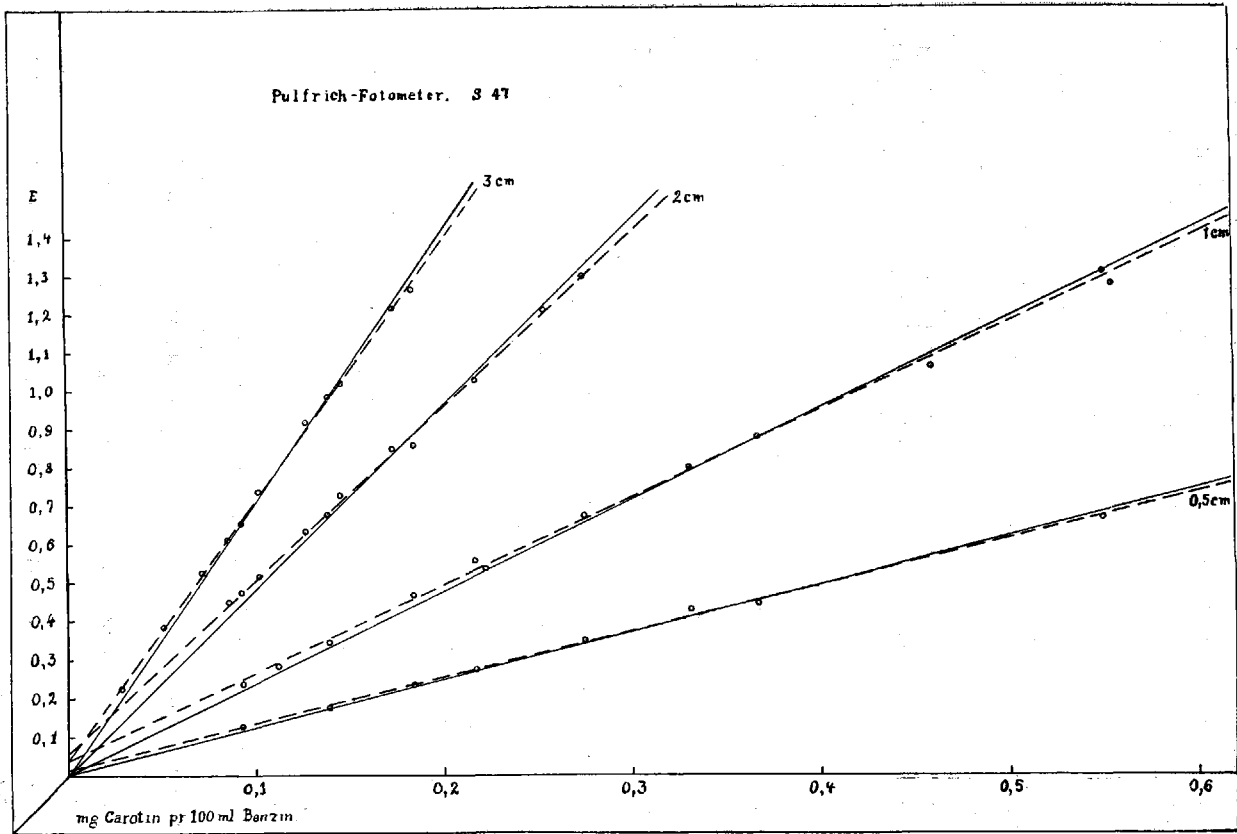


Fig. 6

For at finde, om Forskellene mellem Konstanterne b_1 og b_2 i de to Ligninger er signifikante, kan de vurderes ved Hjælp af Fischers t-Kriterium. Beregningen af t for de forskellige Observationsrækker

Tabel 6.

Filter	Lagtykkelse 3 cm				Lagtykkelse 2 cm			
	a	b_2	t	P	a	b_2	t	P
S. 43	0,0326	5,877	4,78	< 0,01	0,0451	3,898	6,58	< 0,01
S. 45	0,0165	7,247	2,02	ca.0,06	0,0174	4,896	1,58	ca.0,15
S. 47	0,0332	6,813	3,45	< 0,01	0,0543	4,517	4,52	< 0,01
	Lagtykkelse 1 cm				Lagtykkelse 0,5 cm			
	a	b_2	t	P	a	b_2	t	P
S. 43	0,0444	1,911	4,92	< 0,01	0,0147	1,032	2,01	ca.0,1
S. 45	0,0338	2,361	3,50	< 0,01	0,0300	1,191	4,22	< 0,01
S. 47	0,0364	2,276	4,32	< 0,01	0,0162	1,195	2,10	ca.0,08

er ligeledes anført i Tabel 6, ligesom den til t svarende Sandsynlighed P, der angiver Sandsynligheden for, at en Forskel paa denne Størrelse skulde forekomme tilfældigt. Naar P er < 0,01, saa betyder det, at Sandsynligheden for at Forskellen er tilfældig er mindre end 1 : 100.

Betragter vi Tabel 6, ser vi, at for de tre Lagtykkelser 3 cm, 2 cm og 1 cm er t lavere for Filter S. 45 end for de to andre Filtre. Svarende hertil finder vi, at P for S. 45, 3 cm og 2 cm er højere end 0,05, hvilket vil sige, at Forskellen mellem de to beregnede Værdier for b ikke er statistisk signifikant i disse Tilfælde. Det ses altsaa, at Filter S. 45 giver en bedre Overensstemmelse med Beers Lov end de andre Filtre under de her anvendte Forsøgsbetingelser.

Angaaende Grunden til, at Overensstemmelsen med Beers Lov ikke er fuldstændig, kan man tænke sig følgende Muligheder:

- 1) Beers Lov gælder overhovedet ikke for Benzinopløsninger af Carotin.
- 2) Beers Lov gælder ikke for disse Opløsninger maalt i Pulfrich-Fotometret
 - a) paa Grund af særlige Egenskaber ved Fotometret,

- b) paa Grund af Forhold vedrørende Øjets Lysfølsomhed hos den Person, der aflæser Fotometret,
- c) af begge disse Grunde.

Mulighed 1 kan man undersøge ved at forsøge at bestemme Extinktionen ved Hjælp af Spektrografen, idet man her har Mulighed for med rimelig Sikkerhed at maale over et langt større Koncentrationsomraade, nemlig svarende til Værdier for ϵ fra ca. 0,2 til 10,0, hvilket ved en Afvigelse fra Beers Lov vil give væsentlig større Udslag end vi opnaar med Pulfrich-Fotometret, hvor vi kun arbejder over Værdier mellem 0,15 og 1,3.

Forsøg med Spektrograf.

I de to sidste Forsøgsserier, der er omtalt foran, har jeg maalt Extinktionen af en Række af Carotinopløsningerne ved Hjælp af Spektrografen.

Den Spektrograf, der er brugt, er en Universalspektrograf fra Firmaet Carl Zeiss i Jena. Ved Arbejdet i det synlige Spektrum, som det her er sket, er der benyttet et Gitter (med 600 Streger pr. mm). Som Belysningskilde er anvendt en Punktlyslampe (Jævnstrøm). Der er forøvrigt arbejdet med Hüffner-Kondensor, Kuvetter efter Scheibe og Dobbeltsektor efter Gude. Spektrogrammet er optaget paa Plader 9×12 cm (Ilford S. R. Panchromatic Plates). Til Aflæsning af Spektrogrammet benyttedes Zeiss' Spektrenprojektor.

Naar man ved Optagelserne benytter Scheibekuvetterne i naturlig Rækkefølge og Sektoren med konstant Indstilling, f. Eks. Afblanding til 10 %, saa faar man paa den fotografiske Plade en Række Dobbelt-spektre, hvoraf det ene stadig er konstant sværtet, nemlig svarende til 10 % af den Lysmængde, der gaar ind i Opløsningen, medens Sværtningen i det andet Dobbeltspekter stiger med den aftagende Absorption i den aftagende Lagtykkelse af Opløsningen.

Paa hvert Dobbeltspektrum vil man da finde et (eller flere) Steder, hvor Sammenligningsspektret og Analysespektret er lige kraftigt sværtet. Paa dette Sted (d. v. s. ved den Bølgelængde, dette Sted paa Spektret repræsenterer) er den med Sektoren foretagne Svækkelse og den i Opløsningen skete Absorption altsaa lige stor. Nu sagde Lambert's Lov (4)

$$\varepsilon = \frac{1}{d} \left(-\log \frac{I}{I_0} \right)$$

eller hvad der er det samme

$$\varepsilon = \frac{1}{d} \log \frac{I_0}{I}$$

Med Sektoren afblændet til 10 % er

$$\frac{I_0}{I} = \frac{10}{1} = 10,$$

og $\log 10 = 1$. Under disse Forhold bliver da

$$\varepsilon = \frac{1}{d}$$

Som det blev nævnt i Indledningen, optegner man imidlertid paa Absorptionskurven ikke ε , men $\log \varepsilon$; vi har da

$$\log \varepsilon = \log \frac{1}{d}$$

Da vi nu ved Anvendelse af Scheibekuvetterne har valgt at variere Lagtykkelsen logaritmisk, d. v. s. saaledes at $\log d$ for hver efter hinanden følgende Kuvettelængde er 0,1 mindre end den foregaaende, og altsaa $\log \frac{1}{d}$ for hvert nyt Dobbelt-spekter stiger med 0,1 saa kan vi — naar vi bruger Afblænding til 10 % — udfor hvert Dobbelt-spekter angive $\log \varepsilon = \log \frac{1}{d}$ med Tal, der f. Eks. som det ses paa Fig. 3 begynder ved $-1,0$ og stiger med 0,1 til $+1,0$ for det sidste. Overført i Koordinationssystemet faar vi da i samme Eksempel de i Fig. 2 opførte Punkter, hvorigennem vi trækker Absorptionskurven.

Afstanden mellem de af Spektrogrammet aflæste Punkter paa Kurven svarer saaledes til en Forskel i $\log \varepsilon$ paa 0,1, hvilket svarer til en Forskel i ε paa 23 %. For at faa bestemt Kurvens Toppunkt, d. v. s. Maximum af Absorptionen, med større Sikkerhed maa man derfor interpolere. For at faa et tilstrækkeligt sikkert Grundlag for Interpolera-

Tabel 7.

24. Januar 1939. Spektrografisk bestemt Extinktion
af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	$\epsilon_{450} \text{ m}\mu$
3,640	10,00
1,836	5,00
0,915	2,46
0,555	1,48
0,459	1,25
0,367	0,95
0,222	0,61

Tabel 8.

1. Februar 1939. Spektrografisk bestemt Extinktion
af β -Carotin i Benzin.

mg Carotin pr. 100 ml Benzin	$\epsilon_{450} \text{ m}\mu$
2,782	7,41
0,424	1,15
0,225	0,59
0,108	0,29

tionen er jeg gaaet frem paa den Maade, at foruden den sædvanlige Række Optagelser af Dobbeltspetrene med Sektoren afblændet til 10 %, har jeg i en af Opløsningerne ved passende Lagtykkelse optaget Spektre med Sektoren stillet paa 5 %, 20 % og 25 %, hvorved man faar en Række mellemliggende Værdier for $\log \epsilon$ (0,014, 0,044 og 0,080). Ved Hjælp af disse Spektre har jeg optegnet en Standardkurve, der gengiver den finere Struktur af Absorptionen ved Maximum, og denne Standardkurve har jeg benyttet som Model for Interpolationen ved Optegnelsen af de Absorptionskurver, hvoraf jeg har aflæst den maximale Absorption. Paa denne Maade kan ϵ bestemmes med en Sikkerhed paa omkring 3 %.

Resultatet af de spektrografiske Bestemmelser af ϵ for Carotinopløsningerne i Benzin findes i Tabellerne 7 og 8 og er indtegnet i Kurvetavlen Fig. 7. Den indtegnede rette Linie ($\epsilon = 2,715 c$) viser her særdeles god Overensstemmelse med de enkelte Bestemmelser. Beers Lov gælder altsaa for Carotinopløsninger i Benzin, naar Extinktionen maales spektrografisk.

Den ved Benyttelsen af Pulfrich-Fotometret fundne Afvigelse fra Beers Lov maa saaledes henføres til Benyttelsen af Fotometret.

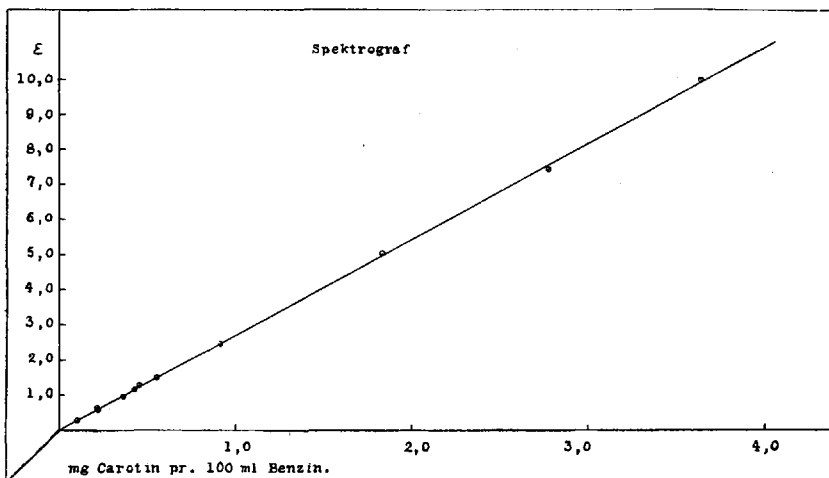


Fig 7.

En Beregning af Ligningen for den Kurve, der er bestemt af *Halden & Unger* (1936) (se Side 14) for Carotin i Benzin, viser ligesom vor Kurve en Afvigelse fra Beers Lov, idet Udligningen efter $y = a + bx$ giver bedre Overensstemmelse end efter $y = bx$, men medens a i vore Ligninger er positiv, er den negativ i *Halden & Ungers* Ligning. Dette tyder paa, at der ved Bestemmelsen begaas en systematisk Fejl, der er forskellig under forskellige Omstændigheder. Der fandtes nu den Mulighed, at Fejlen kunde ligge deri, at forskellige Fotometre var en lille Smule forskellige i Udførelsen (f. Eks. at Blænden kunde være udført lidt forskelligt i forskellige Apparater). Til Undersøgelse af dette Spørgsmaal stillede Firmaet Brock & Michelsen velvilligst et andet Fotometer til Raadighed for en Kontrol, der udførtes derved, at en

Række Carotinopløsninger maaltet efter hinanden baade i vort eget og i det laante Fotometer. Resultatet af denne Undersøgelse var, at samme Opløsning gav samme Extinktion i begge Apparater.

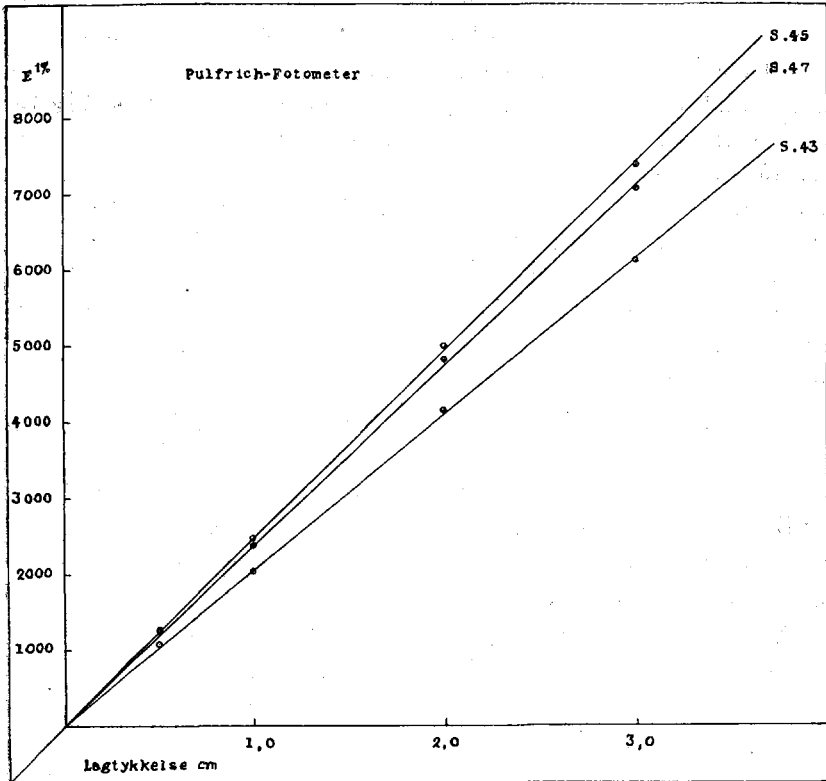


Fig 8.

Afvigelsen fra Beers Lov maa derfor antages ikke at ligge i Udførelsen af Apparaterne, men i en Kombination af:

- 1) det Forhold, at man ved den anvendte Filtrering af Lyset ikke opnaar strengt monochromatisk Lys, med
- 2) subjektive Forhold hos de Personer, der foretager Aflæsningerne, Forhold, der hænger sammen med Øjets forskellige Følsomhed overfor Lysstyrke og Farvetone.

Selv en ganske ringe Afvigelse i Opløsningens Absorptionsmaksimum fra det virksomme Filtermaksimum vil bevirke en Forskel i Farvetonen i de to Synsfelthalvdele i Fotometret, og dette kan give Anledning til, at samme Person vurderer Forskelle i Lysstyrken forskelligt ved svagere og ved stærkere Lysmængder, ligesom forskellige Personer kan vurdere Forskellen forskelligt selv ved samme Lysmængde.

Selvom saaledes en nøjere Vurdering af Analyseresultaterne viser, at der findes systematiske Afvigelser fra Beers Lov, ved den her benyttede Arbejdsmaade, saa viser Kurverne dog, at naar man arbejder indenfor det Afsnit af Fotometrets Arbejdsomraade, hvor selve Maale-nøjagtigheden er størst, d. v. s. mellem Værdier for E paa 0,5 og 1,0, er den systematiske Fejl, der gøres ved at regne med Gyldigheden af Beers Lov, saa lille, at den ikke overskrider den tilfældige Fejl paa Bestemmelsen. Indenfor disse Grænser kan man derfor med tilstrækkelig Sikkerhed regne med Gyldigheden af Beers Lov, og altsaa som Om-regningsfaktor benytte en konstant Værdi for $E^{1\%}$.

Betragter vi den Værdi for $E^{1\%}$ som vi nu har bestemt for de forskellige Lagtykkelser, saa skulde disse efter Lamberts Lov være proportionale med Lagtykkelsen. I Tabel 5 har vi opstillet Værdierne for $E^{1\%}$ for de enkelte Filtre og Lagtykkelser (vi ser, at her i Tabellen er opført de virkelige Lagtykkelser, der er maalt, medens vi i de tidligere Tabeller har brugt de afrundede Tal).

Tallene i Tabel 5 er gengivet grafisk i Fig. 8, der viser, at Overensstemmelsen med Lamberts Lov er tilfredsstillende for de anvendte Lagtykkelser.

Som Gennemsnitstal for $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ kan vi da af disse Tal ved Hjælp af mindste Kvadraters Metode beregne de i Tabel 9 angivne Værdier.

Tabel 9.

	S. 43	S. 45	S. 47
$E_{1\text{ cm}}^{1\%}$	2052	2474	2373
Multiplikationsfaktor til			
γ Carotin	4,87	4,04	4,21
til i. Enh. Carotin	8,12	6,74	7,02

Sammendrag.

Efter en kort Gennemgang af de Principper, der kan anvendes til kvantitativ Carotinmaaling og en kort Oversigt over de i Litteraturen fundne Angivelser af Carotinet's Extinktion, er der beskrevet en Række Forsøg til Bestemmelse af Extinktionskoefficienten for β -Carotinopløsninger i Benzin, under Anvendelse af Pulfrich-Fotometret. Det vises, at der findes en lille Afvigelse fra Beers Lov. Da Opløsningernes Extinktion maalt spektrografisk følger Beers Lov, maa denne Afvigelse skyldes Fotometret, og den skyldes sandsynligvis, at man ikke i dette arbejder med strengt monochromatisk Lys. Afvigelsen fra Beers Lov er mindre ved Benyttelsen af Filter S. 45 end med S. 43 og S. 47. Arbejder man kun indenfor Maaleomraadet $E = 0,5 - 1,0$, er Afvigelsen uden væsentlig Betydning. Overensstemmelsen med Lamberts Lov er tilfredsstillende. Den gennemsnitlige Talværdi for $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$ er for Filter S. 43 = 2052, for Filter S. 45 = 2474 og for Filter S. 47 = 2373. De spektrografiske Bestemmers Gennemsnitstal er $E_{1 \text{ cm } 450 \text{ m}\mu}^{1 \%} = 2715$.

Zusammenfassung.

Nach einer kurzen Darstellung der Prinzipien, die bei der quantitative Carotinmessung benutzt werden können, und einer kurzen Übersicht über die in der Litteratur gefundenen Angaben der Extinktion des Carotins, ist eine Reihe von Versuchen zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten von β -Carotin-Lösungen in Benzin beschrieben; ein Pulfrich-Photometer ist benutzt. Man findet eine kleine Abweichung vom Gesetz Beers. Weil die Extinktion der Lösung spektrometrisch gemessen dem Gesetz Beers folgt, muss die Photometer Schuld daran sein, dass diese Abweichung erscheint, wahrscheinlich weil man hier nicht mit streng monochromatischem Licht arbeitet. Die Abweichung vom Gesetz Beers ist weniger wenn man den Filter S. 45 benutzt als wenn Filter S. 43 oder S. 47 benutzt werden. Wenn man nur mit Messungen zwischen $E = 0,5$ bis $1,0$ arbeitet, ist die Abweichung ohne praktische Bedeutung. Die Übereinstimmung mit dem Gesetz Lamberts ist für die hier benutzten Schichtdicken befriedigend. Die durchschnittlichen Zahlenwerte für $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$ ist für Filter S. 43 = 2052, für Filter S. 45 = 2474 und für Filter S. 47 = 2373. Der Durchschnittswert der spektrografischen Bestimmungen ist $E_{1 \text{ cm } 450 \text{ m}\mu}^{1 \%} = 2715$.

Summary.

After a short description of the principles, which can be used for quantitative measurements of carotene, and a short survey of the statements found in the literature concerning the extinction of carotene, a series of experiments are described, on the determination of the extinction-coefficient for β -carotene in benzenesolution, measured on the Zeiss Pulfrich-Photometer. The extinction here measured shows a small deviation from Beer's law. As the extinction of the same solutions measured spectrographically follows Beer's law, the deviation must be due to the Photometer, and is probable due to the fact, that the photometer does not work with strict monochromatic light. The deviations from Beer's law are smaller when using the filter S. 45 than when S. 43 or S. 47 are employed. When the extinctions are read between $E = 0,5$ and $E = 1,0$, the deviations are of no practical importance. The readings are sufficiently consistent with Lambert's law. The average value for $E_{1 \text{ cm}}^{1 \%}$ are for filter S. 43 = 2052, for filter S. 45 = 2474 and for filter S. 47 = 2373. The average of the spectrographical determinations is $E_{1 \text{ cm } 450 \text{ m}\mu}^{1 \%} = 2715$.

Litteratur.

- Bernegg, A. S. v., Heierle, E. & Almasy, F.* (1935). Spektrophotometrische Bestimmung von Chlorophyll a, Chlorophyll b, Carotin und Xanthophyll. *Biochem. Zeitsch.* 283. 45.
- Gillam, A. E.* (1935). Spectrometric measurements on various carotenoids. *Biochem. Jour.* 29. 1831.
- Halden, W. & Unger, G. K.* (1936). Zur Carotinbestimmung in kleinsten Blut-mengen. *Mikrochemie. Molisch-Festschrift.* 194.
- Hume, E. M. & Chick, H.* (1935). Reports on biological standards. IV. The standardisation and estimation of vitamin A. Medical Res. Council. London.
- Kuhn, R. & Brockmann, H.* (1932). Bestimmung von Carotinoiden. *Hoppe-Zeiler Zeitsch physiol. Chemie.* 206. 41.
- Miller, E. S.* (1937). A precise method with detailed calibration for the determination of absorbtion coefficients; the quantitative measurement of the visible and ultraviolet absorbtion spectra of alpha carotene, beta carotene and lycopene. *Plant Physiol.* 12. 567.
- Miller, E. S., Mackinney, G. & Zscheile jr., F. P.* (1935). Absorbtion spectra of alpha and beta carotene and lycopene. *Plant Physiol.* 10. 375.
- Petersen, W. J., Hughes, J. S. & Freeman, H. F.* (1937). Determination of carotene in forage. Modification of the Guilbert method. *Indust. Eng. Chem. (Anal. Ed.).* 9. 71.
- Pummerer, R. & Rebmann, L.* (1928). Ueber Carotin. *Ber.deutsch.chem. Gesellsch.* 61. 1099.
- Pummerer, R., Rebmann, L. & Reindell, W.* (1929). Über die Bestimmung des Sättigungszustandes von Polyenen mittels Chlorjods und Benzopersäure. *Ber.deutsch.chem. Gesellsch.* 62. 1411.
- Schertz, F. M.* (1923). The quantitative determination of carotin by means of the spectrofotometer and colorimeter. *Journ. agric. Res.* 26. 375.
- Smith, J. H. C.* (1936). Carotene. X. A comparison of absorbtion spectra measurements on α -Carotene, β -Carotene and Lycopene. *Journ. amer. chem. Soc.* 58. 247.
- Willstätter, R. & Stoll, A.* (1913). Untersuchungen über Chlorophyll. Berlin.
- Zechmeister, L.* (1934). Carotinoide. Berlin.
-

En Fortegnelse over de fra Landøkonomisk Forsøgslaboratorium tidligere udsendte Beretninger findes bagest i Beretningerne, senest i Laboratoriets 183. Beretning. Fortegnelsen kan faas ved skriftlig Henvendelse til Forsøgslaboratoriets Kontor, Rolighedsvej 25, København V.