

215. Beretning fra Forsøgslaboratoriet.

Udgivet af Statens Husdyrbrugsudvalg.

Om organiske Oxysyrers Virkning paa Resorptionen af Kalcium og Fosfat i Tarmen.

Af

Holger Møllgaard.

Om kvantitativ Bestemmelse af Proteinstoffer, Polypeptider og Aminosyrer i vore Fodermidler.

Af

Grete Thorbek.



I Kommission hos Ejvind Christensens Forlag,
Vesterbrogade 60, København V.

Trykt i Frederiksberg Bogtrykkeri.

1945

STATENS HUSDYRBRUGSFORSØG

Statens Husdyrbrugsudvalg

Forstander *Johs. Petersen-Dalum*, Hjallese, *Formand*.

Gaardejer *P. M. Pedersen*, Skjørring, Mørke,

valgte af De samvirkende danske Landboforeninger.

Konsulent *J. Albrechtsen*, Aarhus,

Parcellist *Sofus Jensen*, Atterup, Grevinge,

valgte af De samvirkende danske Husmandsforeninger.

Forstander *L. Lauridsen*, Graasten, *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. *I. G. Hansen*.

Husdyrbrugsafdelingerne

Forsøg med Kvæg:

Forstander: Professor *L. Hansen Larsen*,

Forsøgsleder: Landbrugskandidat *H. Wenzel Eskedal*,

— Landbrugskandidat, Dr. agro. *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*.

Statens Foderstofkontrol:

Inspektør: cand. polyt. *J. Gredsted Andersen*,

Fuldmægtig: Landbrugskandidat *Harald M. Petersen*.

Kontor og Sekretariat

Leder: Forstander, cand. polyt. *A. C. Andersen*,

Fuldmægtig: Landbrugskandidat *Holger Ærsøe*,

Bogholder: *A. Lindahl*.

Udvalgets, Forsøgslaboratoriets og Afdelingernes Adresse er:

Rolighedsvej 25, København V.

Til

Statens Husdyrbrugsudvalg!

Jeg tillader mig herved at anmode Udvalget om, at følgende to Afhandlinger maa blive optaget i Forsøgslaboratoriets officielle Beretninger:

1. Holger Møllgaard: Om organiske Oxysyrers Virkning paa Resorptionen af Kalcium og Fosfat i Tarmen.
2. Grete Thorbek: Om kvantitativ Bestemmelse af Proteinstoffer, Polypeptider og Aminosyrer i vore Fodermidler.

Ærbødigst

Holger Møllgaard.

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

Odense, Juni 1945.

Johs. Petersen-Dalum,
Formand.

**Om organiske
Oxysyrers Virkning paa Resorptionen
af Kalcium og Fosfat i Tarmen.**

Af

Holger Møllgaard.

INDHOLDSFORTEGNELSE

	Side
Kap. 1: Fældningspunktet for Ca-Fytat og dets Paavirkning af Opløsningens Indhold af organiske Oxysyrer	7
Kap. 2: Reaktionen i Tarmkanalens forskellige Afsnit	12
Kap. 3: Virkningen af Vinsyre paa Retention og Resorption af Ca og P	15
Kap. 4: Virkningen af Mælkesyre paa Retention og Resorption af Ca og P	17
Kap. 5: Middelkvotienter for alle Forsøgsperioder med og uden Tilsætning af organiske Syrer	18
Kap. 6: Virkningen af Vinsyre paa Retention og Resorption af Ca og P ved lavt Ca-Indhold i Foderet	20
Kap. 7: Sammenfatning af Resultater	21

Gennem en stor Række Undersøgelser, der blev udført ved Samarbejde mellem Forsøgslaboratoriets dyrefysiologiske Afdeling og Arbejdernes Fællesbageriers Centrallaboratorium, er det vist, at en Række organiske Oxysyrer i udpræget Grad forøger Reaktionshastigheden ved Fytinets Spaltning med Kornets egen Fytase som Katalysator i Dejgen.

De stærkest virkende af de undersøgte Syrer var *d-Vinsyre* og *Citronsyre*, derefter fulgte *Glycolsyre*, *Mælkesyre* og *Æblesyre*, medens Pyrodruesyre og Glycerinsyre er uden Virkning, og Dioxyvinsyre hæmmer Processen. Den fremmede Virkning af de nævnte Syrer var mest udtalt, naar der var tilsat en vis Mængde CaCO_3 (svarende til 0,4—0,5 pCt. Ca) til Melet, hvoraf Dejgen fremstilledes.

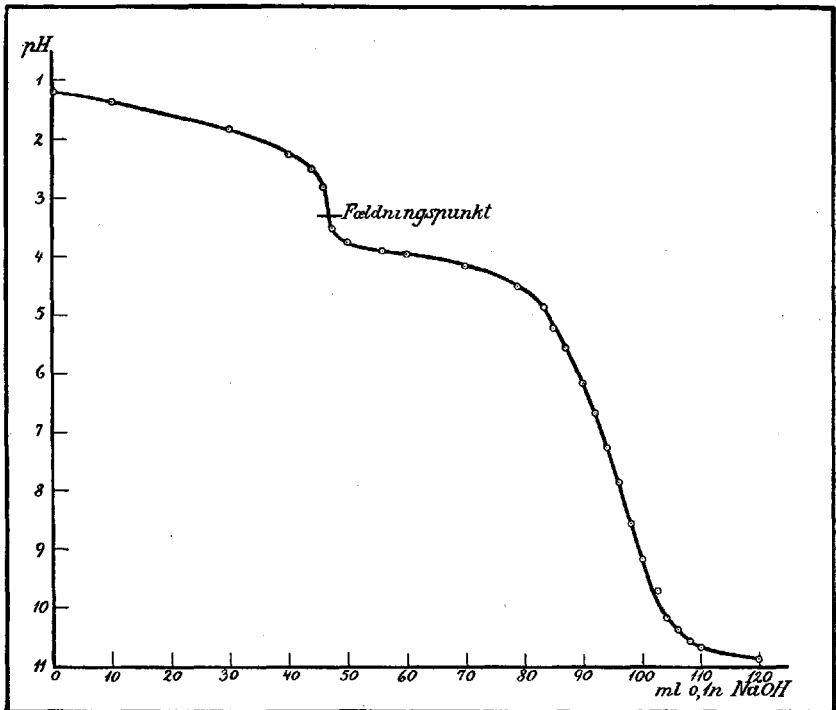
Tilsætningen af dette Salt hæmmede Fytinspaltningen ret stærkt, og det samme er senere fundet for Calciumlaktat, hvorimod CaHPO_4 har væsentlig mindre Virkning. Det laa da nær at antage, at en væsentlig Del af Forklaringen paa Oxysyrernes fremmede Virkning paa Fytinspaltningen laa i, at de holdt det meget tungtopløselige *Ca-Fytat*, der ellers dannes i Dejgen, opløst. At Syrerne faktisk har denne Virkning, fremgaar tydeligt af de i Kap. 1 omtalte Forsøg.

Kap. 1. Fældningspunktet for *Ca-Fytat* og dets Paavirkning af Opløsningens Indhold af organiske Oxysyrer.

Paa Kurvetavle 1 ses en Titreringskurve for Calciumfyttat. Den blev fremstillet saaledes, at ækvivalente Mængder af Natriumfyttat og Calciumklorid opløstes i Vand, hvorefter der tilsattes saa meget Saltsyre, at pH laa ved ca. 2. Der titreredes derpaa med $n/10$ NaOH, idet Potentiallet maalt med Glaselektrode. Molariteten af Fyttat-Opløsningen var 0,0067 ved Titreringens Begyndelse.

Som det fremgaar af Tavle 1 har Kurven to Vendepunkter. Ved pH mellem 2 og 3 kommer en svag Uklarhed i Vædsken, men ved det første Vendepunkt, d. v. s. ved et pH: 3,7 kommer der en tydelig Udfældning af Calciumfyttat. Da Titreringskurven herefter vender, vil det

Fig. 1. Titreringskurve for Calciumfyttat.

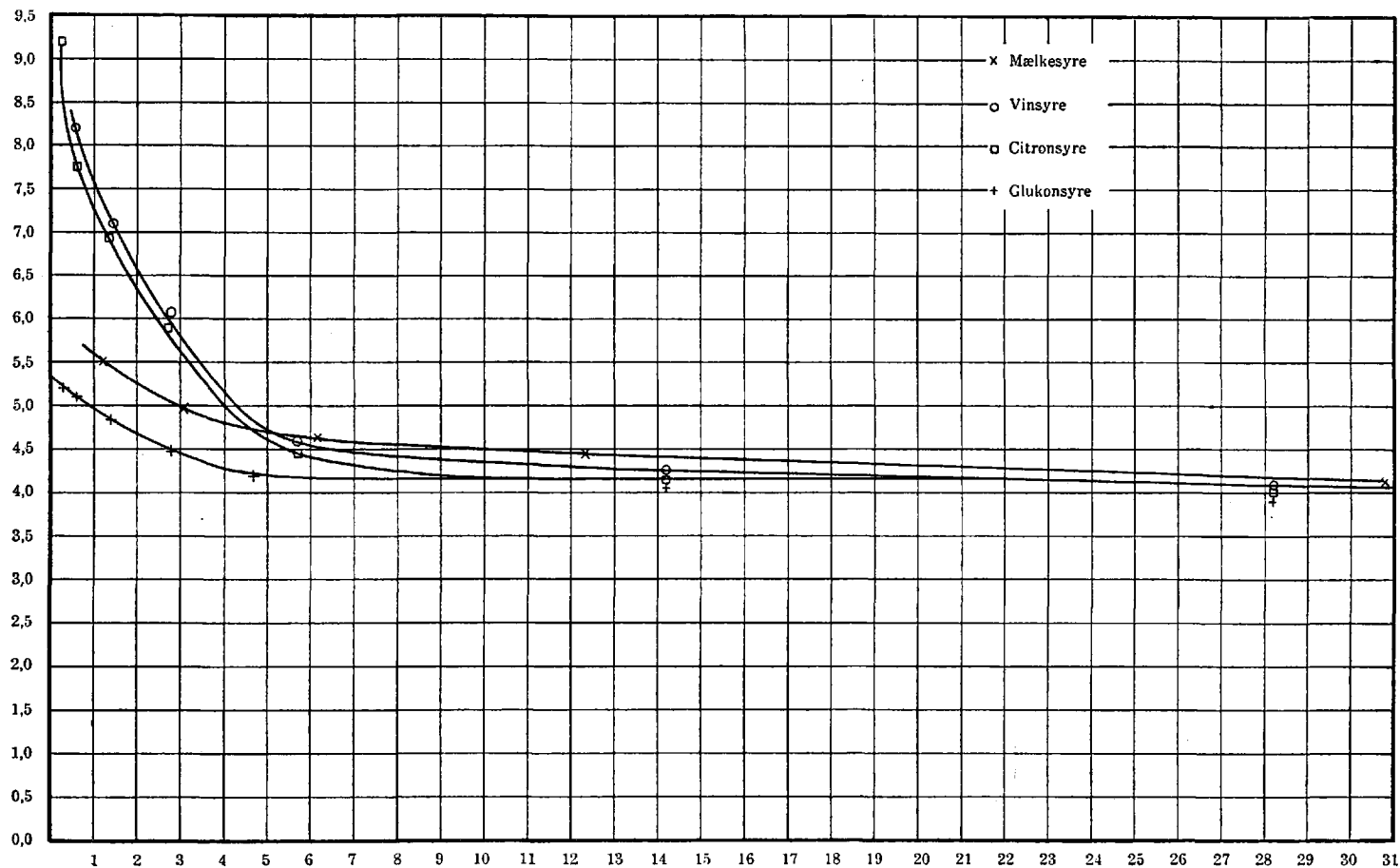


sige, at det er *et basisk Salt*, der fældes ud. Ved Analyse af det ved 3,7 udfældede Stof fandtes Forholdet $\frac{P}{Ca} = 1,25$. I sine Undersøgelser over Opløseligheden af Ca-Fytat angiver *Hoff-Jørgensen*, at Saltet har konstant Sammensætning, naar Fældningen sker i pH-Intervallet 4,6—6,9. Indenfor dette Omraade er Forholdet $\frac{P}{Ca}$ tilnærmelsesvis 1,2, hvilket svarer til en Forbindelse med den empiriske Formel $C_6H_2O_{24}P_6Ca_5$ altsaa til Pentacalciumfyttat. Den oven anførte Analyse stemmer da meget godt med Hoff-Jørgensens Angivelser, naar det tages i Betragtning, at den gælder et Bundfald, der er fældet ud lidt udenfor det angivne pH-Omraade.

Herefter maa det betragtes som givet, at der indenfor det pH-Omraade, der ligger mellem 3,7 og Neutralpunktet, maa *udfældes Pentacalciumfyttat*, naar Opløsningen tilsættes Ca^{++} .

Paa Kurvetavle 2 ses en Række Kurver, der angiver, hvorledes

Fig. 2. Titreringskurve for Calciumfyttat afhængig af Koncentrationen af organiske Syrer.



Udfældningspunktet for Ca-Fytat forskydes ved varierende Koncentration af Oxyssyrer i Opløsningen. Abscissen angiver Værdier for Kvotienten: $\frac{\text{milliæqv. Fytat}}{\text{milliæqv. Syre}} \cdot 10$, Ordinaten det pH, hvorved Udfældningen

er tydelig. Det ses uden videre, at Udfældningspunktet forskydes i Retning af højere pH, efterhaanden som Syrekoncentrationen stiger i Forhold til Fytatkoncentrationen. Det ses tillige, at Forskydningen er størst for *Citronsyre* og *Vinsyre*, medens den er væsentlig mindre for Mælkesyre og kun ringe for Glukonsyre.

Af Kurverne for Vinsyre og Citronsyre fremgaar, at Udfældningspunktet forskydes fra 3,7 til 4,7, naar Opløsningen indeholder omtrent dobbelt saa mange Syreækvivalenter som Fytatækvivalenter, og at det ligger helt oppe ved 6,5, naar der er ca. 5 Gange saa mange Ækvivalenter Syre som Fytat. Der kan herefter ikke være Tvivl om, at de nævnte Syrer har en betydelig forøgende Virkning paa Opløseligheden af Ca-Fytat. Det holdes opløst ved langt højere pH-Værdier, end naar disse Syrer ikke er til Stede.

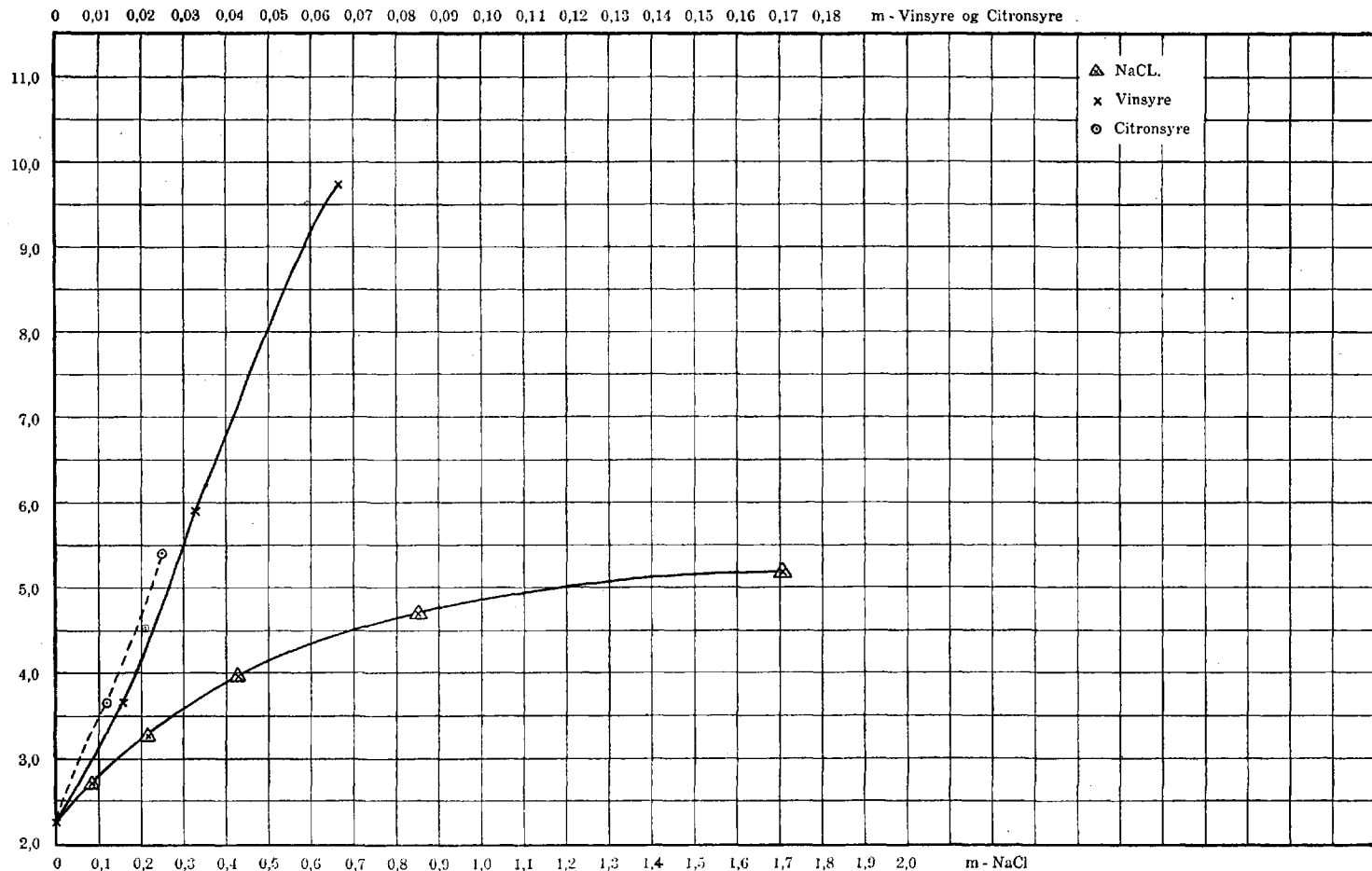
En kvantitativ Bekræftelse paa dette Forhold er givet af *P. E. Christensen*, der direkte maalte Opløseligheden af Pentacalciumfytat paa følgende Maade. Et Overskud af *Pentacalciumfytat* roteredes i et Døgn med Opløsninger af Natriumklorid, Vinsyre og Citronsyre ved en Temperatur af 20 °. Derefter frafiltreredes 10 ml af Opløsningen som Prøve, og Indholdet af Ca og P bestemtes heri. Resultaterne ses paa Kurvetavle 3. Som Ordinat er afsat Gram Pentacalciumfytat pr. Liter Opløsning og som Abscisse den molære Koncentration af henholdsvis Klor-natrium, Vinsyre og Citronsyre. Det ses uden videre, at de to nævnte Syrer forøger Opløseligheden af Calciumfytatet ganske enormt.

Ganske lignende Forhold er fundet af *P. E. Christensen* for Calciumjodathexahydrat, saaledes at Virkningen af de to Syrer kan antages at gælde for alle tungtopløselige Ca-Salte i Almindelighed, herunder ogsaa for de tungtopløselige Calciumfosfater.

Virkningen beror utvivlsomt paa, at de to Syrer binder Calciumionen komplext, men paa den anden Side har videre Forsøg i høj Grad sandsynliggjort, at Komplexet ikke er meget fast, men nærmest har Karakter af udissocieret Calciumtartrat og Calciumcitrat.

Under disse Omstændigheder ligger det nær at antage, at *Citronsyre* og *Vinsyre* og maaske ogsaa *Mælkesyre* kan have en fremmende Virkning paa Resorptionen af Ca og maaske ogsaa af P fra Tarmkana-

Fig. 3. Opløseligheden af Calciumfyttat afhængig af Indholdet af organiske Syrer.



len ved at binde Ca^{++} komplekt, saaledes at Udfældning af Ca-Fytat eller Ca-Fosfat bliver Minimum ved en vis Koncentration af de to Syrer i Tarmindholdet, men Resorptionen af Ca^{++} dog ikke forhindres, idet Ligevægten mellem Ca-Komplex, Ca-Ion og Fytat- eller Fosfation stadig paany indstilles, efterhaanden som Ca^{++} fjernes fra Tarmindholdet ved Resorption.

De Forsøg, som er beskrevet i den følgende Fremstilling, er anstillede for at klargøre, hvorvidt en saadan Virkning af de nævnte Syrer lader sig eftervise paa levende Dyr.

Kap. 2. Reaktionen i Tarmkanalens forskellige Afsnit.

Gennem et meget stort Maalearbejde, der har strakt sig over flere Aar, og er udført her paa Institutet, har Reservelæge *Erik Hagens* fremskaffet meget fyldige Oplysninger om Reaktionen i Tarmkanalens forskellige Afsnit under forskellige Fodringsforhold. Paa Grund af Dr. Hagens pludselige Død, har hans Afhandling om Resultaterne af disse Undersøgelser endnu ikke kunnet offentliggøres i sin Helhed. Et Afsnit er offentliggjort af Dr. Hagens selv i Tidsskrift for Nordisk Medicin, og forhaabentlig bliver det muligt at fremskaffe og offentliggøre hele Materialet senere. I Tabellerne 1 til 4 er der imidlertid givet en foreløbig Sammenstilling af Resultaterne af Dr. Hagens Maalinger paa Svin under normale Fodringsforhold.

Maalingerne er udført paa udtagne Prøver af Tarmindholdet umiddelbart efter Udtagningen. Udtagningen skete gennem Kanyler, der var indlagt i Ventrikel, Duodenum, Jejunum og Ileum. I Jejunum laa de gennemgaaende 3—4 Meter og i Ileum 13—15 Meter fra Pylorus. Til Maalingerne er anvendt en Glaselektrode, hvis Hældning kontrolleredes omhyggeligt baade før og efter Maalingerne i hvert enkelt Tilfælde. Prøverne er udtaget paa et saadant Tidspunkt efter Fodringen, at Tarmen paa det paagældende Sted vides at være fyldt med Fordøjelsesprodukter fra den optagne Føde. *Det er altsaa pH-Værdierne under Fordøjelsen, der er angivet i nedenstaaende Tabeller.* Paa enkelte af Forsøgsdyrene er Tallenes Rigtighed kontrolleret ved Maalinger med Glaselektrode direkte gennem Kanylerne paa det levende Dyr, som i disse Tilfælde forsynedes med en Kalomelelektrode i Ventrikel og Rectum. Maalingerne med begge Elektroder gav meget nær samme Resultat. I denne Afhandling anføres dog kun Værdierne, der er maalt paa udtagne Prøver.

TABEL 1.

pH-Maaling paa udtaget Ventrikelindhold. Prøvetagning begyndt
ca. 30 Minutter efter Fodring.

Forsøg Nr.	Svin Nr.	Prøver fra Ventrikel- massens Yderlag		Prøver fra Ventrikel- massens Midte	
		Antal	Grænseværdi for pH	Antal	Grænseværdi for pH
II ₁	T 73	8	1,14—2,79		
II ₁	T 73	13	1,02—3,78		
II ₃	T 73	11	1,06—2,21	11	1,66—4,59
II ₃	T 73	16	1,35—3,48	16	1,79—5,29
II ₅	T 43	6	1,43—2,40	7	1,76—4,48
II ₅	T 43	5	1,81—3,66	4	3,61—4,19
II ₇	T 43	5	1,19—1,78	5	1,30—5,08
II ₇	T 43	5	1,34—3,03	5	1,34—3,99
II ₉	T 15	9	1,64—3,27		
III ₈	T 43	6	0,95—1,95	6	1,54—4,26

Det ses af Tabel 1, at pH i Ventrikelmassens Yderlag gennemgaaende er meget lavere end i dens Midte, hvilket var at vente, da den secernerede Saltsyre som bekendt trænger ind i Massen fra Ventrikelens Vægge. I det chymificerede Ventrikelindhold ligger pH gennemgaaende mellem 1 og 3.

TABEL 2.

pH-Maaling paa udtaget Duodenalindhold. Prøvetagningen begyndt
ca. 45 Minutter efter Fodring.

Forsøg Nr.	Svin Nr.	Antal Prøver	Grænseværdier for pH
II ₁	T 73	11	2,46—6,15
II ₁	T 73	9	3,07—6,04
II ₃	T 73	11	3,30—6,10
II ₃	T 73	12	2,34—6,29
II ₅	T 43	6	4,03—5,04
II ₅	T 43	5	4,29—5,37
II ₇	T 43	6	3,97—5,97
II ₇	T 43	5	3,93—5,93
II ₉	T 15	14	4,04—5,66
III ₈	T 43	9	2,65—5,60
III ₁	T 33	6	3,91—6,12
III ₁	T 33	5	4,19—5,12
III ₄	T 33	7	4,31—5,36
III ₄	T 33	7	3,17—4,78
III ₅	T 6	8	3,60—5,60
III ₅	T 6	9	3,47—4,97

Det ses af Tabel 2, at pH-Værdierne i Duodenum viser meget store Variationer, hvilket maatte ventes, da Ventriklen tømmes periodisk og

Maalingen derfor maa falde helt forskellig ud, alt eftersom Prøven udtages lige efter en Tømming eller senere, naar en Del af den sure Chymus er transporteret videre i Tarmen og Neutralisationen med HCO_3 fra Pancreassaft og Galde gør sig stærkere gældende. Det ses imidlertid, at Reaktionen i alle Tilfælde forbliver *sur* og gennemgaaende er fundet til pH-Værdier mellem 3 og 6.

TABEL 3.

pH-Maaling paa udtaget Jejunumindhold. Prøvetagning begyndt
3 Timer efter Fodring.

Forsøg Nr.	Svin Nr.	Antal Prøver	Grænseværdi for pH
II ₁	T 73	7	5,14—5,68
II ₁	T 73	5	5,30—5,61
II ₃	T 73	10	5,37—6,54
II ₃	T 73	8	5,66—6,03
II ₅	T 43	6	5,73—6,23
II ₆	T 43	5	5,92—6,38
II ₇	T 43	5	5,80—6,25
II ₇	T 43	6	5,98—6,52
II ₉	T 15	16	5,64—6,75
III ₈	T 43	7	5,59—6,35

Det ses af Tabel 3, at Variationerne i Jejunum er væsentligt mindre end i Duodenum, hvilket var at vente, da Tarmindholdet, efterhaanden som det drives længere ned i Tarmen, bliver mere jævnt blandet. pH ligger gennemgaaende mellem 5 og 6,5. Reaktionen er altsaa stadig *sur*.

TABEL 4.

pH-Maaling paa udtaget Ileumindhold. Prøvetagning begyndt
ca. 5 Timer efter Fodring.

Forsøg Nr.	Svin Nr.	Antal Prøver	Grænseværdi for pH
II ₁	T 73	5	6,68—7,73
II ₃	T 73	2	7,25—7,51
II ₃	T 73	2	6,71—6,89
II ₅	T 43	6	6,72—7,39
II ₅	T 43	5	7,04—7,49
II ₇	T 43	4	7,35—7,57
II ₇	T 43	6	6,53—7,28
II ₉	T 15	6	6,75—7,33
III ₈	T 43	5	7,38—7,60
III ₁	T 33	4	7,20—7,36
III ₁	T 33	4	7,3 —7,35
III ₄	T 33	4	7,10—7,46
III ₄	T 33	2	6,70—7,48

Det fremgaar af Tabel 4, at pH i den nederste Del af Ileum svinger omkring Neutralpunktet.

Som samlet Resultat af alle her anførte Maalinger kan man da angive følgende tilnærmede Intervaller for pH i de omhandlede Afsnit af Tarmen:

Duodenum	3 —6
Midten af Jejunum	5 —6,5
Nederste Del af Ileum ..	6,5—7,5

Dette vil da sige, at i langt den største Del af Tyndtarmen, hvor Resorptionen i det væsentlige foregaar, er Reaktionen *svagt sur*.

Da nævneværdige Mængder HPO_4^{--} først dannes ved et $\text{pH} = 6$ og først ved $\text{pH} = 7$ antager et saadant Omfang, at Forholdet $\frac{\text{H}_2\text{PO}_4^-}{\text{HPO}_4^{--}}$

bliver lig 1, vil Calcium- og Fosfationer følgelig i den øverste Del (sandsynligvis de øverste to Trediedele) af Tyndtarmen kunne eksistere uafhængigt af hinanden som Ca^{++} og H_2PO_4^- . Først i den nederste Del af Ileum vil CaHPO_4 kunne udfældes. Da imidlertid Ca og P i de af *Hagens* offentliggjorte Forsøg resorberes i hele Tyndtarmen, altsaa ogsaa fra dennes nederste Partier, hvor Reaktionen svinger om Neutralpunktet, kan den opløselighedsforøgende Virkning af *Vinsyre* og *Citronsyre* meget vel tænkes at have en gunstig Indflydelse paa Resorptionen af disse Stoffer under alle praktiske Fodringsforhold.

Endnu mere udpræget maa imidlertid dette antages at gælde, naar Fodret indeholder væsentlige Mængder af Fytin. Da Pentacalciumfyttat fældes allerede ved $\text{pH} = 3,7$, vil dette Stof fælde ud allerede i de øverste Afsnit af Tyndtarmen. Herved maa saavel Spaltningen af Fytinet som Resorptionen af Ca^{++} antages at blive i væsentlig Grad forsinket. Til sætning af en af de to Syrer til Fodret kan derfor ventes at befordre Resorptionen af baade Calcium og Fosfat, naar der er væsentlige Mængder Fytin i Fodret.

Kap. 3. Virkningen af Vinsyre paa Retention og Resorption af Ca og P.

Til disse Forsøg saavel som til alle de følgende er anvendt 4 Svin, der indkom til Laboratoriet fra Trollesmnide. Dyrene var alle Hundyr og vejede ved Ankomsten fra 20—23 kg.

Vinsyreforsøget udførtes med nedenstaaende to Forsøgsperioder:

	Forsøgsperiode I	Forsøgsperiode II
Svin 43 og 45	Forper. 12-10—19-10-44 Forsøgssper. 19-10—25-10-44	Forper. 25-10—1-11-44 Forsøgssper. 1-11—7-11-44
Svin 47 og 48	Forper. 12-10—20-10-44 Forsøgssper. 20-10—26-10-44	Forper. 26-10—2-11-44 Forsøgssper. 2-11—8-11-44

I Forsøgsperiode I fik Svin 43 og 45 hver 13,5 g Vinsyre daglig, 47 og 48 var Kontroller.

I Forsøgsperiode II fik Svin 47 og 48 hver 16,5 g Vinsyre daglig, 43 og 45 var Kontroller.

I ingen af Forsøgene tilførtes Vitamin D.

Sammensætningen af Foder, Gødning og Urin fremgaar af Hovedtabellerne. I nedenstaaende Tabel 5 A og B er Retentions- og Resorptionskvotienterne anført:

TABEL 5 A.

Vinsyre i Fodret.

Forsøgsperiode	Dyr Nr.	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Retention %	Ca-Retention %	P-Resorption %	Ca-Resorption %
I	43	5,62	7,64	33,5	41,8	42,3	43,2
I	45	5,62	7,64	33,6	45,3	42,3	46,3
II	47	6,90	9,29	32,9	34,0	43,6	35,6
II	48	6,90	9,29	35,8	37,4	44,1	38,6
Middel				34,0	39,6	43,1	40,9

TABEL 5 B.

Ingen Vinsyre i Fodret.

	Dyr Nr.	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Retention %	Ca-Retention %	P-Resorption %	Ca-Resorption %
I	47	5,62	7,64	25,1	29,6	28,3	30,8
I	48	5,62	7,64	30,4	37,3	34,7	38,5
II	43	6,90	9,29	31,0	33,2	35,2	34,2
II	45	6,90	9,29	34,1	25,6	36,4	26,4
Middel				30,2	31,4	33,7	32,5

Det fremgaar tydeligt at Tabel 5 A og B, at saavel Retentions- som navnlig Resorptionskvotienterne er væsentlig højere i Forsøgene med Vinsyre end i dem uden Vinsyre. P-Resorptionen er gennemsnitlig stegt med ca. 28 pCt. og Ca-Resorptionen med ca. 26 pCt.

Samtidig med de omtalte Forsøg blev der udført 4 Forsøg med to andre Svin, der fik et Tilskud af ca. 1200 I. E. Vitamin D daglig. Resultaterne af disse Forsøg ses af Tabel 6.

TABEL 6.

Ingen Vinsyre men 1200 IE Vitamin D.

Forsøgsperiode	Dyr Nr.	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Retention %	Ca-Retention %	P-Resorption %	Ca-Resorption %
I	86	5,47	6,71	34,6	38,2	45,5	39,8
I	87	5,47	6,71	33,8	39,5	44,6	41,1
II	86	6,36	7,79	37,4	46,6	49,8	47,4
II	87	6,36	7,79	29,6	40,4	41,5	41,5
Middel				33,9	41,2	45,4	42,5

Ved Sammenligning mellem Tabel 5 og 6 fremgaar meget tydeligt, hvor betydelig Virkningen af Vinsyretilsætningen paa Resorptionen af Ca og P i Virkeligheden er, *idet det ses, at den forhøjer Resorptionen af disse Stoffer lige saa meget som et dagligt Tilskud af 1200 I. E. Vitamin D.*

Kap. 4. Virkningen af Mælkesyre paa Retention og Resorption af Ca og P.

Forsøget er udført ganske efter samme Plan som Vinsyreforsøget med to Forsøgsperioder som angivet nedenfor:

	Forsøgsperiode I	Forsøgsperiode II
Svin 43 og 45	Forper. 9-11—15-11-44	Forper. 23-11—29-11-44
	Forsøgssper. 15-11—21-11-44	Forsøgssper. 29-11— 5-12-44
Svin 47 og 48	Forper. 10-11—16-11-44	Forper. 23-11—30-11-44
	Forsøgssper. 16-11—22-11-44	Forsøgssper. 30-11— 6-12-44

I Forsøgsperiode III fik Svin 43 og 45 hver 8 g Mælkesyre daglig, 47 og 48 var Kontroller.

I Forsøgsperiode IV fik Svin 47 og 48 hver 8,8 g Mælkesyre daglig 43 og 45 var Kontroller.

Der gives ikke Vitamin D i noget af Forsøgene. Sammensætningen af Foder, Gødning og Urin fremgaar af Hovedtabellerne.

I Tabel 7 A og B er Retentions- og Resorptionskvotienterne for disse Forsøg angivet.

Fra Kontrollforsøgene i Tabel 7 B bør Forsøg IV, 43 udelades, da dette Svin efter Mælkesyretillægget i Periode III vedblev gennem alle følgende Forsøgsperioder til Periode IX uanset Syretillæg eller ej, at vise stigende Resorptionskvotienter for baade Ca og P. Da dette er

TABEL 7 A.

Mælkesyre i Fodret.

Forsøgs- periode	Dyr Nr.	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Reten- tion %	Ca-Reten- tion %	P-Resorp- tion %	Ca-Resorp- tion %
III	43	8,16	10,97	35,5	41,0	41,2	42,3
III	45	8,16	10,97	34,8	39,1	37,5	39,7
IV	47	9,41	12,66	35,6	40,4	43,1	41,9
IV	48	9,41	12,66	31,8	38,2	37,1	39,3
Middel				34,4	39,7	39,7	40,8

TABEL 7 B.

Ingen Mælkesyre i Fodret.

III	47	8,16	10,97	32,1	35,2	37,7	36,2
III	48	8,16	10,97	29,4	33,7	33,0	34,6
IV	43	9,41	12,66	(39,5)	(45,0)	(46,2)	(46,1)
IV	45	9,41	12,66	33,0	34,9	36,1	35,8
Middel				33,5	37,2	38,3	38,2
Middel uden 43 IV:				31,5	34,6	35,6	35,5

enestaaende i Forsøgsrækken, maa der være sket en Ændring i dette Dyrs Tarmprocesser, antagelig en spontan Stigning af Mælkesyredannelsen. Spørgsmaalet vil komme til nærmere Behandling senere, men udelades Forsøg 43 IV af Kontrolrækken, ses det, at Mælkesyretilsætningen har forhøjet baade Retentions- og Resorptionskvotienterne for Ca og P væsentligt om end ikke saa stærkt som Vinsyren gjorde det. Resorptionskvotienten for P er i Middel steget med *ca. 12 pCt.* for Ca med *ca. 15 pCt.*

Et yderligere Forsøg med en Mælkesyretilsætning paa 20 g pr. Dag gav i det væsentlige samme Resultat. Kvotienterne steg ikke yderligere.

Et Forsøg med Citronsyre med kun to Forsøgsperioder gav en tydelig Stigning af Resorptionskvotienten for Citronsyretillægget, men Tallene er usikre, fordi Dyr Nr. 43 her igen maatte udelades, saaledes at der kun er een anvendelig Citronsyreperiode.

Kap. 5. Middelkvotienter for alle Forsøgsperioder med og uden Tilsætning af organiske Syrer.

I Tabel 8 A er opført samtlige Forsøg med Tillæg af organiske Syrer, og Middelkvotienterne er udregnet for hele Materialet med Udeladelse af 43 V.

TABEL 8 A.
Organiske Syrer i Fodret.

Nr. Periode	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Re- tention %	Ca-Re- tention %	P-Re- sor- ption %	Ca-Re- sor- ption %	Organ. Syrer i Foder	
							Syre	g pr. Dag
43 I	5,62	7,64	33,5	41,8	42,3	43,2	Vinsyre	13,5
45 I	5,62	7,64	33,6	45,3	42,3	46,3	Vinsyre	13,5
47 II	6,90	9,29	32,9	34,0	43,6	35,6	Vinsyre	16,5
48 II	6,90	9,29	35,8	37,4	44,1	38,6	Vinsyre	16,5
43 III	8,16	10,97	35,5	41,0	41,2	42,3	Mælkesyre	8,0
45 III	8,16	10,97	34,8	39,1	37,5	39,7	Mælkesyre	8,0
47 IV	9,41	12,66	35,6	40,4	43,1	41,9	Mælkesyre	8,8
48 IV	9,41	12,66	31,8	38,2	37,1	39,3	Mælkesyre	8,8
43 V	10,21	13,49	(45,6)	(50,6)	(52,1)	(51,8)	Citronsyre	15,0
45 V	10,21	13,49	34,0	36,5	40,8	37,6	Citronsyre	15,0
47 VI	10,81	14,31	27,7	35,6	38,4	37,3	Mælkesyre	20,0
48 VI	10,81	14,31	34,0	38,4	39,3	40,3	Mælkesyre	20,0
Middel uden 43 V			33,6	38,9	40,9	40,2		

I Tabel 8 B er opført samtlige Forsøg uden Tillæg af organiske Syrer, og Middelkvotienterne er beregnet med Udeladelse af 43 IV og VI.

TABEL 8 B.
Ingen organiske Syrer tilsat Fodret.

Nr. Periode	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Re- tention %	Ca-Re- tention %	P-Re- sor- ption %	Ca-Re- sor- ption %	Organ. Syrer i Foder	
							Syrer	g pr. Dag
47 I	5,62	7,64	25,1	29,6	28,3	30,8	0	
48 I	5,62	7,64	30,4	37,3	34,7	38,5	0	
43 II	6,90	9,29	31,0	33,2	35,2	34,2	0	
45 II	6,90	9,29	34,1	25,6	36,4	26,4	0	
47 III	8,16	10,97	32,1	35,2	37,7	36,2	0	
48 III	8,16	10,97	29,4	33,7	33,0	34,6	0	
43 IV	9,41	12,66	(39,5)	(45,0)	(46,2)	(46,1)	0	
45 IV	9,41	12,66	33,0	34,9	36,1	35,8	0	
47 V	10,21	13,49	34,3	33,0	39,2	34,7	0	
48 V	10,21	13,49	34,2	31,3	37,2	32,5	0	
43 VI	10,81	14,31	(43,7)	(51,4)	(50,3)	(52,2)	0	
45 VI	10,81	14,31	29,3	31,7	36,0	32,9	0	
Middeluden Nr. 43 IV og VI			31,3	32,6	35,4	33,7		

Det ses tydeligt, at Middelkvotienterne er væsentlig større i Forsøgene med Syretillæg end i dem uden dette.

I Tabel 9 er sammenstillet alle samtidigt udførte Forsøg med Vitamin D-Tillæg, og Middelkvotienterne af alle Forsøg er beregnet.

TABEL 9.
Ingen Syrer tilsat med Vit.-D.

Nr. Periode	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Retention %	Ca-Retention %	P-Resorption %	Ca-Resorption %	Vitamin	I. E.
86 I	5,47	6,71	34,6	38,2	45,5	39,8	D-Vit.	1200
87 I	5,47	6,71	33,8	39,5	44,6	41,1	D-Vit.	1200
86 II	6,36	7,79	37,4	46,6	49,8	47,4	D-Vit.	1200
87 II	6,36	7,79	29,6	40,4	41,5	41,5	D-Vit.	1200
86 III	7,59	10,14	41,1	49,1	50,1	50,0	D-Vit.	1200
87 III	7,59	10,14	33,9	41,8	43,1	43,1	D-Vit.	1200
86 IV	8,50	10,37	41,9	55,5	55,8	56,6	D-Vit.	1200
86 IV	8,50	10,37	34,5	46,8	47,5	47,8	D-Vit.	1200
Middel			35,9	44,7	47,2	45,9		

Det ses af Tallene, at Middelkvotienten for 1200 I. E. D-Vitamin er noget større end for Syretillæggene.

Kap. 6. Virkningen af Vinsyre paa Retention og Resorption af Ca og P ved lavt Ca-Indhold i Foderet.

Forsøget er udført efter samme Plan som de to omtalte Forsøg med Vinsyre og Mælkesyre. De to Forsøgsperioders Varighed er angivet nedenfor.

	Forsøgsperiode VII	Forsøgsperiode VIII
Svin 43 og 45	Forper. 12-1—18-1-45 Forsøgssper. 18-1—24-1-45	Forper. 26-1—1-2-45 Forsøgssper. 1-2—7-2-45
Svin 47 og 48	Forper. 12-1—19-1-45 Forsøgssper. 19-1—25-1-45	Forper. 26-1—2-2-45 Forsøgssper. 2-2—8-2-45

I Forsøgsperiode VII fik Svin 43 og 45 hver 25,5 g Vinsyre daglig, 47 og 48 var Kontroller.

I Forsøgsperiode VIII fik Svin 47 og 48 hver 25,5 g Vinsyre daglig, 43 og 45 var Kontroller.

Der gaves ikke Vitamin D i noget af Forsøgene. Sammensætningen af Foder, Gødning og Urin fremgaar af Hovedtabellen.

I Tabel 10 A og B ses Resultaterne af disse to Forsøgsperioder, idet Dyr Nr. 43 udelades i begge Perioder af de foran anførte Grunde:

TABEL 10 A.
Vinsyre i Fodret.

Nr. Periode	P i Foder g pr. Dag	Ca i Foder g pr. Dag	P-Retention %	Ca-Retention %	P-Resorption %	Ca-Resorption %	Vinsyre
43 VII	9,05	5,94	(28,1)	(38,9)	(52,0)	(41,4)	25,5
45 VII	9,05	5,94	33,8	45,3	56,1	48,0	25,5
47 VIII	9,05	5,94	26,4	47,1	54,5	51,5	25,5
48 VIII	9,05	5,94	27,4	38,6	46,3	42,9	25,5
Middel uden 43 VII			29,2	43,7	52,3	47,5	

TABEL 10 B.
Ingen Vinsyre i Fodret.

47 VII	9,05	5,94	26,7	35,4	45,2	38,2	0
48 VII	9,05	5,94	27,2	31,1	41,9	34,7	0
43 VIII	9,05	5,94	(35,8)	(54,4)	(57,8)	(56,2)	0
45 VIII	9,05	5,94	26,2	43,4	46,5	45,3	
Middel uden 43 VIII			26,7	36,6	44,5	39,4	

Det fremgaar heraf, at Resorptionskvotienterne for Ca og P i Kontrolforsøgene er noget højere end i de foregaaende Kontrolforsøg (sml. Tabel 8 B), hvilket var at vente som en Følge af det lavere Indhold af disse Stoffer i Fodret. Men det ses tillige, at Kvotienterne baade for Ca og P forhøjes væsentligt ved Vinsyretilsætningen. Denne virker da aabenbart ret ensartet indenfor temmelig vide Variationer af Indholdet af Ca og P i Fodret. Stigningen er 18 pCt. for P-Resorptionen og 21 pCt. for Ca- Resorptionen.

Kap. 7. Sammenfatning af Resultater.

Af samtlige Forsøg, der er omtalt under Kap. 3 til 5 fremgaar det tydeligt, at de organiske Oxyrer, som forøger Reaktionshastigheden ved Spaltningen af Fytinet i Dejg, har en meget tydelig forhøjende Virkning paa Resorptionen af Calcium og Fosfat fra Tarmkanalen hos Svin. Den stærkeste Virkning synes Vinsyren at have. Fysiologisk set har imidlertid Virkningen af Mælkesyren den største Interesse, idet denne Syre normalt dannes i varierende Mængder i Svinets Ventrikel.

under den første Fase af Fordøjelsen, hvor pH ligger omkring 4,5. Det er aabenbart, at Mængden af saaledes dannet Mælkesyre kan spille en ret væsentlig Rolle for Resorptionen af Ca og P i Tarmen, og at de ikke ubetydelige Variationer, man finder i Fordøjelseskvotienterne for disse Stoffer, dels hos forskellige Individuer og dels hos samme Individ under forskellige Fodringsbetingelser, meget vel kan skyldes Variationer i Mælkesyredannelsen. Den gunstige Virkning af syret Skummetmælk paa Ungsvinenes Trivsel faar dermed ogsaa en naturlig Forklaring. Men Syrningen bør følgelig altid ske med *Mælkesyre* og ikke med Eddikesyre, eller andre Fedtsyrer, som efter alt foreliggende er uden Virkning paa Resorptionen af Ca og P.

Undersøgelserne over disse Forhold vil blive fortsat paa den dyrefysiologiske Afdeling, idet man gennem Forsøg paa Svin med Kanyler i Mave og Tarm vil forsøge at faa Klarhed over, hvilke organiske Syrer der dannes i Tarmen hos disse Dyr under forskellige Fodringsforhold for derigennem at faa Oplysning om, hvorledes man skal udforme de bedste Betingelser for Resorptionen af Ca og P hos de unge voksende Dyr. Om disse Forsøgsresultater vil der blive givet Meddelelse i en senere Beretning.

HOVEDTABELLER

Hovedtabel 1.

Gris Y 43. Forsøg I.

Forperiode 12. Oktober—19. Oktober 1944.

Forsøgsperiode 19. Oktober Kl. 9—25. Oktober Kl. 9.

Tilskud af 13,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	405	340,9	1,30	0,13	0,89
Hvede	180	152,3	0,56	0,05	0,42
Hvedeklid	180	156,2	2,17	0,17	1,93
Blodmel	90	81,1	0,15	0,09	—
Lucernemel	45	40,3	0,10	0,97	—
Skummetmælk	468	43,2	0,44	0,56	—
CaHPO ₄	5,4	5,4	0,90	1,26	—
CaCO ₃	10,8	10,8	—	4,17	—
NaCl	5,4	5,4	—	—	—
Vand	2200	0,2	—	0,24	—
Dagligt Foder		835,8	5,62	7,64	3,24
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	833	190,7	3,24	4,34	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1683		0,50	0,11	
Resorption g			2,38	3,30	
do. pCt.			42,3	43,2	
Retention g			1,88	3,19	
do. pCt.			33,5	41,8	

Gris Y 45. Forsøg I.

Forperiode 12. Oktober—19. Oktober 1944.

Forsøgsperiode 19. Oktober Kl. 9—25. Oktober Kl. 9.

Tilskud af 13,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 I)		835,8	5,62	7,64	3,24
Gødning Gennemsnitl. pr. Dag	721	185,8	3,24	4,10	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1661		0,49	0,08	
Resorption g			2,38	3,54	
do. pCt.			42,3	46,3	
Retention g			1,89	3,46	
do. pCt.			33,6	45,3	

Gris Y 47. Forsøg I.

Forperiode 12. Oktober—20. Oktober 1944.

Forsøgsperiode 20. Oktober Kl. 9—26. Oktober Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 I)		835,8	5,62	7,64	3,24
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	844	205,6	4,03	5,29	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1456		0,18	0,09	
Resorption g			1,59	2,35	
do. pCt.			28,3	30,8	
Retention g			1,41	2,26	
do. pCt.			25,1	29,6	

Gris Y 48. Forsøg I.

Forperiode 12. Oktober—20. Oktober 1944.

Forsøgsperiode 20. Oktober Kl. 9—26. Oktober Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 I)		835,8	5,62	7,64	3,24
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	877	190,9	3,67	4,70	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1483		0,24	0,09	
Resorption g			1,95	2,94	
do. pCt.			34,7	38,5	
Retention g			1,71	2,85	
do. pCt.			30,4	37,3	

Hovedtabel 2.

Gris Y 43. Forsøg II.

Forperiode 25. Oktober—1. November 1944.

Forsøgsperiode 1. November Kl. 9—7. November Kl.9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	495	416,7	1,59	0,16	1,08
Hvede	220	186,1	0,69	0,06	0,51
Hvedeklid	220	190,9	2,65	0,21	2,35
Blodmel	110	99,1	0,18	0,10	—
Lucernemel	55	49,3	0,13	1,18	—
Skummetmælk	571,5	53,4	0,57	0,68	—
CaHPO ₄	6,6	6,6	1,09	1,54	—
CaCO ₃	13,2	13,2	—	5,10	—
NaCl	6,6	6,6	—	—	—
Vand	2600	0,3	—	0,26	—
Dagligt Foder		1022,2	6,90	9,29	3,94
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	969	235,8	4,47	6,11	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1694		0,29	0,10	
Resorption g			2,43	3,18	
do. pCt.			35,2	34,2	
Retention g			2,14	3,08	
do. pCt.			31,0	33,2	

Gris Y 45. Forsøg II.

Forperiode 25. Oktober—1. November 1944.

Forsøgsperiode 1. November Kl. 9—7. November Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 II)		1022,2	6,90	9,29	3,94
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	899	236,6	4,39	6,84	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1744		0,16	0,07	
Resorption g			2,51	2,45	
do. pCt.			36,4	26,4	
Retention g			2,35	2,38	
do. pCt.			34,1	25,6	

Gris Y 47. Forsøg II.

Forperiode 26. Oktober—2. November 1944.

Forsøgsperiode 2. November Kl. 9—8. November Kl. 9.

Tilskud af 16,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 II)		1022,2	6,90	9,29	3,94
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1019	234,5	3,89	5,98	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1623		0,74	0,15	
Resorption g			3,01	3,31	
do. pCt.			43,6	35,6	
Retention g			2,27	3,16	
do. pCt.			32,9	34,0	

Gris Y 48. Forsøg II.

Forperiode 26. Oktober—2. November 1944.

Forsøgsperiode 2. November Kl. 9—8. November Kl. 9.

Tilskud af 16,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 II)		1022,2	6,90	9,29	3,94
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	957	221,2	3,86	5,70	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1435		0,57	0,12	
Resorption g			3,04	3,59	
do. pCt.			44,1	38,6	
Retention g			2,47	3,47	
do. pCt.			35,8	37,4	

Hovedtabel 3.

Gris Y 43. Forsøg III.

Forperiode 9. November—15. November 1944.

Forsøgsperiode 15. November Kl. 9—21. November Kl. 9.

Tilskud af 10 ml Mælkesyre (80 pCt.) daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	585	492,5	1,88	0,22	1,26
Hvede	260	221,1	0,78	0,06	0,59
Hvedeklid	260	224,7	3,15	0,25	2,77
Blodmel	130	116,9	0,23	0,08	—
Lucernemel	65	59,1	0,15	1,40	—
Skummetmælk	675,4	63,1	0,68	0,82	—
CaHPO ₄	7,8	7,8	1,29	1,81	—
CaCO ₃	15,6	15,6	—	6,03	—
NaCl	7,8	7,8	—	—	—
Vand	3000	0,3	—	0,30	—
Dagligt Foder		1208,9	8,16	10,97	4,62
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1039	250,2	4,80	6,33	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2034		0,46	0,14	
Resorption g			3,36	4,64	
do. pCt.			41,2	42,3	
Retention g			2,90	4,50	
do. pCt.			35,5	41,0	

Gris Y 45. Forsøg III.

Forperiode 9. November—15. November 1944.

Forsøgsperiode 15. November Kl. 9—21. November Kl. 9.

Tilskud af 10 ml Mælkesyre (80 pCt.) daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 III)		1208,9	8,16	10,97	4,62
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1089	259,7	5,10	6,61	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1954		0,22	0,07	
Resorption g			3,06	4,36	
do. pCt.			37,5	39,7	
Retention g			2,84	4,29	
do. pCt.			34,8	39,1	

Gris Y 47. Forsøg III.

Forperiode 10. November—16. November 1944.

Forsøgsperiode 16. November Kl. 9—22. November Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 III)		1208,9	8,16	10,97	4,62
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1133	266,8	5,08	7,00	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1819		0,46	0,11	
Resorption g			3,08	3,97	
do. pCt.			37,7	36,2	
Retention g			2,62	3,86	
do. pCt.			32,1	35,2	

Gris Y 48. Forsøg III.

Forperiode 10. November—16. November 1944.

Forsøgsperiode 16. November Kl. 9—22. November Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 III)		1208,9	8,16	10,97	4,62
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1064	273,9	5,47	7,17	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	1733		0,29	0,10	
Resorption g			2,69	3,80	
do. pCt.			33,0	34,6	
Retention g			2,40	3,70	
do. pCt.			29,4	33,7	

Hovedtabel 4.

Gris Y 43. Forsøg IV.

Forperiode 23. November—29. November 1944.

Forsøgsperiode 29. November Kl. 9—5. December Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	675	568,2	2,17	0,26	1,46
Hvede	300	255,1	0,90	0,07	0,68
Hvedeklid	300	259,3	3,63	0,28	3,20
Blodmel	150	134,9	0,27	0,09	—
Lucernemel	75	68,2	0,18	1,62	—
Skummetmælk	779,3	72,7	0,77	0,95	—
CaHPO ₄	9	9,0	1,49	2,09	—
CaCO ₃	18	18,0	—	6,96	—
NaCl	9	9,0	—	—	—
Vand	3400	0,3	—	0,34	—
Dagligt Foder		1394,7	9,41	12,66	5,34
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1161	285,8	5,06	6,83	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2085		0,63	0,13	
Resorption g			4,35	5,83	
do. pCt.			46,2	46,1	
Retention g			3,72	5,70	
do. pCt.			39,5	45,0	

Gris Y 45. Forsøg IV.

Forperiode 23. November—29. November 1944.

Forsøgsperiode 29. November Kl. 9—5. December Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 IV)		1394,7	9,41	12,66	5,34
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1236	321,9	6,01	8,13	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2358		0,29	0,11	
Resorption g			3,40	4,53	
do. pCt.			36,1	35,8	
Retention g			3,11	4,42	
do. pCt.			33,0	34,9	

Gris Y 47. Forsøg IV.

Forperiode 23. November—30. November 1944.

Forsøgsperiode 30. November Kl. 9—6. December Kl. 9.

Tilskud af 11 ml Mælkesyre (80 pCt.) daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 IV)		1394,7	9,41	12,66	5,34
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1327	291,9	5,35	7,35	
Urin gennemsnitl pr. Dag	2055		0,71	0,19	
Resorption g			4,06	5,31	
do. pCt.			43,1	41,9	
Retention g			3,35	5,12	
do. pCt.			35,6	40,4	

Gris Y 48. Forsøg IV.

Forperiode 23. November—30. November 1944.

Forsøgsperiode 30. November Kl. 9—6. December Kl. 9.

Tilskud af 11 ml Mælkesyre (80 pCt.) daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 IV)		1394,7	9,41	12,66	5,34
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1274	307,5	5,92	7,68	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2044		0,50	0,14	
Resorption g			3,49	4,98	
do. pCt.			37,1	39,3	
Retention g			2,99	4,84	
do. pCt.			31,8	38,2	

Hovedtabel 5.

Gris Y 43. Forsøg V.

Forperiode 7. December—13. December 1944.

Forsøgsperiode 13. December Kl. 9—19. December Kl. 9.

Tilskud af 15 g Citronsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	720	608,6	2,30	0,26	1,50
Hvede	320	275,4	1,04	0,08	0,71
Hvedeklid	320	276,0	3,96	0,23	3,26
Blodmel	160	144,6	0,28	0,13	—
Lucernemel	80	72,8	0,19	1,77	—
Skummetmælk	831,2	77,8	0,85	1,01	—
CaHPO ₄	9,6	9,6	1,59	2,23	—
CaCO ₃	19,2	19,2	—	7,42	—
NaCl	9,6	9,6	—	—	—
Vand	3600	0,4	—	0,36	—
Dagligt Foder		1494,0	10,21	13,49	5,47
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1287	304,8	4,89	6,50	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2238		0,66	0,16	
Resorption g			5,32	6,99	
do. pCt.			52,1	51,8	
Retention g			4,66	6,83	
do. pCt.			45,6	50,6	

Gris Y 45. Forsøg V.

Forperiode 7. December—13. December 1944.

Forsøgsperiode 13. December Kl. 9—19. December Kl. 9.

Tilskud af 15 g Citronsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 V)		1494,0	10,21	13,49	5,47
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1398	336,5	6,04	8,42	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2510		0,70	0,15	
Resorption g			4,17	5,07	
do. pCt.			40,8	37,6	
Retention g			3,47	4,92	
do. pCt.			34,0	36,5	

Gris Y 47. Forsøg V.

Forperiode 7. December—14. December 1944.

Forsøgsperiode 14. December Kl. 9—20. December Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 V)		1494,0	10,21	13,49	5,47
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1392	328,0	6,21	8,81	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2308		0,50	0,23	
Resorption g			4,00	4,68	
do. pCt.			39,2	34,7	
Retention g			3,50	4,45	
do. pCt.			34,3	33,0	

Gris Y 48. Forsøg V.

Forperiode 7. December—14. December 1944.

Forsøgsperiode 14. December Kl. 9—20. December Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Forsøg Y 43 V)		1494,0	10,21	13,49	5,47
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1224	317,4	6,41	9,11	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2180		0,31	0,16	
Resorption g			3,80	4,38	
do. pCt.			37,2	32,5	
Retention g			3,49	4,22	
do. pCt.			34,2	31,3	

Hovedtabel 6.

Gris Y 43. Forsøg VI.

Forperiode 21. December—28. December 1944.

Forsøgsperiode 28. December Kl. 9—3. Januar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	765	646,7	2,45	0,28	1,60
Hvede	340	292,6	1,10	0,08	0,76
Hvedeklid	340	293,2	4,21	0,24	3,47
Blodmel	170	153,6	0,29	0,14	—
Lucernemel	85	77,3	0,20	1,88	—
Skummetmælk	878,9	80,8	0,87	1,06	—
CaHPO ₄	10,2	10,2	1,69	2,37	—
CaCO ₃	20,4	20,4	—	7,88	—
NaCl	10,2	10,2	—	—	—
Vand	3800	0,4	—	0,38	—
Dagligt Foder		1585,4	10,81	14,31	5,83
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1026	289,3	5,37	6,84	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2267		0,72	0,11	
Resorption g			5,44	7,47	
do. pCt.			50,3	52,2	
Retention g			4,72	7,36	
do. pCt.			43,7	51,4	

Gris Y 45. Forsøg VI.

Forperiode 21. December—28. December 1944.

Forsøgsperiode 28. December Kl. 9—3. Januar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 VI)		1585,4	10,81	14,31	5,83
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1288	340,3	6,92	9,60	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2558		0,72	0,18	
Resorption g			3,89	4,71	
do. pCt.			36,0	32,9	
Retention g			3,17	4,53	
do. pCt.			29,3	31,7	

Gris Y 47. Forsøg VI.

Forperiode 21. December—29. December 1944.

Forsøgsperiode 29. December Kl. 9—4. Januar Kl. 9.

Tilskud af 25 ml Mælkesyre (80 pCt.) daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 VI)		1585,4	10,81	14,31	5,83
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1229	310,9	6,66	8,97	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2562		1,16	0,25	
Resorption g			4,15	5,34	
do. pCt.			38,4	37,3	
Retention g			2,99	5,09	
do. pCt.			27,7	35,6	

Gris Y 48. Forsøg VI.

Forperiode 21. December—29. December 1944.

Forsøgsperiode 29. December Kl. 9—4. Januar Kl. 9.

Tilskud af 25 ml Mælkesyre (80 pCt.) daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 VI)		1585,4	10,81	14,31	5,83
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1116	320,7	6,56	8,55	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2162		0,57	0,26	
Resorption g			4,25	5,76	
do. pCt.			39,3	40,3	
Retention g			3,68	5,50	
do. pCt.			34,0	38,4	

Hovedtabel 7.

Gris Y 43. Forsøg VII.

Forperiode 12. Januar—18. Januar 1945.

Forsøgsperiode 18. Januar Kl. 9—24. Januar Kl. 9.

Tilskud af 25,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	765	644,9	2,52	0,29	1,73
Hvede	340	292,1	1,04	0,08	0,79
Hvedeklid	340	293,5	4,08	0,28	3,71
Blodmel	170	154,1	0,31	0,11	—
Lucernemel	85	77,9	0,22	1,37	—
Skummetmælk	880,6	81,5	0,88	1,07	—
CaCO ₃	6,12	6,1	—	2,36	—
NaCl	9,18	9,2	—	—	—
Vand	3800	0,4	—	0,38	—
Dagligt Foder		1559,7	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1064	308,9	4,34	3,48	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2560		2,17	0,15	
Resorption g			4,71	2,46	
do. pCt.			52,0	41,4	
Retention g			2,54	2,31	
do. pCt.			28,1	38,9	

Gris Y 45. Forsøg VII.

Forperiode 12. Januar—18. Januar 1945.

Forsøgsperiode 18. Januar Kl. 9—24. Januar Kl. 9.

Tilskud af 25,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y43 VII)		1559,7	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1183	308,1	3,97	3,09	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2809		2,02	0,16	
Resorption g			5,08	2,85	
do. pCt.			56,1	48,0	
Retention g			3,06	2,69	
do. pCt.			33,8	45,3	

Gris Y 47. Forsøg VII.

Forperiode 12. Januar—19. Januar 1945

Forsøgsperiode 19. Januar Kl. 9—25. Januar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y43 VII)		1559,7	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1274	305,0	4,96	3,67	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2582		1,67	0,17	
Resorption g			4,09	2,27	
do. pCt.			45,2	38,2	
Retention g			2,42	2,10	
do. pCt.			26,7	35,4	

Gris Y 48. Forsøg VII.

Forperiode 12. Januar—19. Januar 1945.

Forsøgsperiode 19. Januar Kl. 9—25. Januar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y43 VII)		1559,7	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1116	306,3	5,26	3,88	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2604		1,33	0,21	
Resorption g			3,79	2,06	
do. pCt.			41,9	34,7	
Retention g			2,46	1,85	
do. pCt.			27,2	31,1	

Hovedtabel 8.

Gris Y 43. Forsøg VIII.

Forperiode 26. Januar—1. Februar 1945.

Forsøgsperiode 1. Februar Kl. 9—7. Februar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	765	644,9	2,52	0,29	1,73
Hvede	340	292,1	1,04	0,08	0,79
Hvedeklid	340	293,5	4,08	0,28	3,71
Blodmel	170	154,1	0,31	0,11	—
Lucernemel	85	77,9	0,22	1,37	—
Skummetmælk	880,6	82,0	0,88	1,07	—
CaCO ₃	6,12	6,1	—	2,36	—
NaCl	9,18	9,2	—	—	—
Vand	3800	0,4	—	0,38	—
Dagligt Foder		1560,2	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1213	289,2	3,82	2,60	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2532		1,99	0,11	
Resorption g			5,23	3,34	
do. pCt.			57,8	56,2	
Retention g			3,24	3,23	
do. pCt.			35,8	54,4	

Gris Y 45. Forsøg VIII.

Forperiode 26. Januar—1. Februar 1945.

Forsøgsperiode 1. Februar Kl. 9—7. Februar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y43 VIII)		1560,2	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1322	328,9	4,84	3,25	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2916		1,84	0,11	
Resorption g			4,21	2,69	
do. pCt.			46,5	45,3	
Retention g			2,37	2,58	
do. pCt.			26,2	43,4	

Gris Y 47. Forsøg VIII.

Forperiode 26. Januar—2. Februar 1945.

Forsøgsperiode 2. Februar Kl. 9—8. Februar Kl. 9.

Tilskud af 25,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 VIII)		1560,2	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1209	291,2	4,12	2,88	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2717		2,54	0,26	
Resorption g			4,93	3,06	
do. pCt.			54,5	51,5	
Retention g			2,39	2,80	
do. pCt.			26,4	47,1	

Gris Y 48. Forsøg VIII.

Forperiode 26. Januar—2. Februar 1945.

Forsøgsperiode 2. Februar Kl. 9—8. Februar Kl. 9.

Tilskud af 25,5 g Vinsyre daglig.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 VIII)		1560,2	9,05	5,94	6,23
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1011	305,6	4,86	3,39	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2324		1,71	0,26	
Resorption g			4,19	2,55	
do. pCt.			46,3	42,9	
Retention g			2,48	2,29	
do. pCt.			27,4	38,6	

Hovedtabel 9.**Gris Y 43. Forsøg IX.**

Forperiode 9. Februar—15. Februar 1945.

Forsøgsperiode 15. Februar Kl. 9—21. Februar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Byg	850	729,7	2,76	0,32	1,78
Hvede	255	224,7	0,80	0,07	0,61
Hvedeklid	340	299,0	4,25	0,33	3,74
Blodmel	170	154,1	0,28	0,07	—
Lucernemel	85	78,8	0,22	1,39	—
Skummetmælk	877,2	80,7	0,86	1,04	—
CaCO ₃	6,12	6,1	—	2,36	—
NaCl	9,18	9,2	—	—	—
Vand	3800	0,4	—	0,38	—
Dagligt Foder		1582,7	9,17	5,96	6,13
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1291	315,3	4,88	3,58	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2339		1,50	0,11	
Resorption g			4,29	2,38	
do. pCt.			46,8	39,9	
Retention g			2,79	2,27	
do. pCt.			30,4	38,1	

Gris Y 45. Forsøg IX.

Forperiode 9. Februar—15. Februar 1945.

Forsøgsperiode 15. Februar Kl. 9—21. Februar Kl. 9.

Intet Tilskud.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 IX)		1582,7	9,17	5,96	6,13
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1121	318,1	5,02	3,70	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	3100		1,44	0,10	
Resorption g			4,15	2,26	
do. pCt.			45,3	37,9	
Retention g			2,71	2,16	
do. pCt.			29,6	36,2	

Gris Y 47. Forsøg IX.

Forperiode 9. Februar—16. Februar 1945.

Forsøgsperiode 16. Februar Kl. 9—22. Februar Kl. 9.

Intet Tilskud, men Mælken er syrnet.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 IX)		1582,7	9,17	5,96	6,13
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	1346	336,1	5,59	4,02	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2671		1,27	0,16	
Resorption g			3,58	1,94	
do. pCt.			39,0	32,6	
Retention g			2,31	1,78	
do. pCt.			25,2	29,9	

Gris Y 48. Forsøg IX.

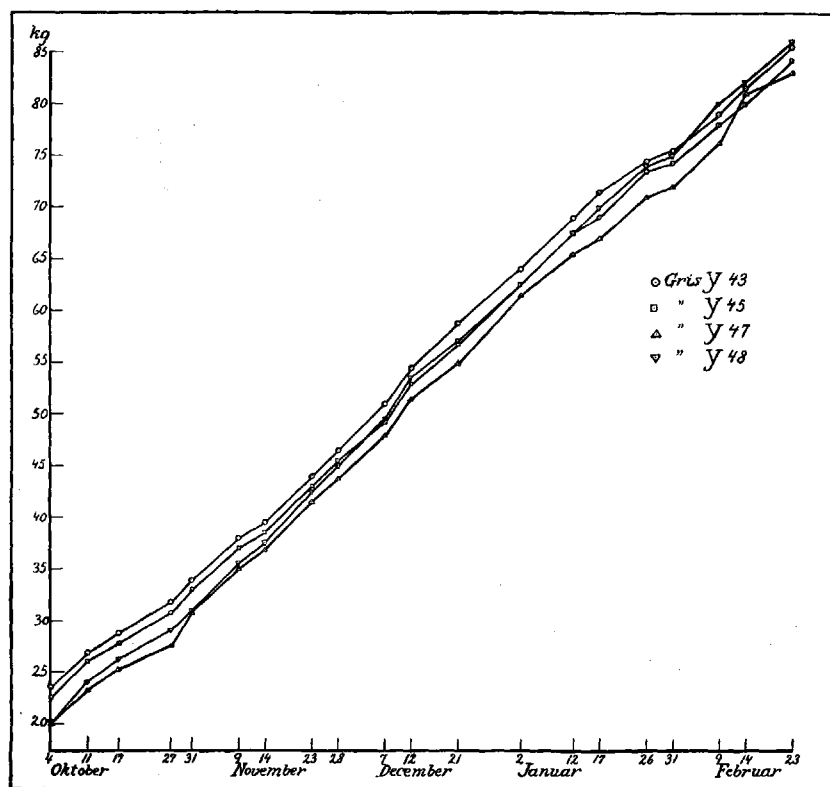
Forperiode 9. Februar—16. Februar 1945.

Forsøgsperiode 16. Februar Kl. 9—22. Februar Kl. 9.

Intet Tilskud, men Mælken er syrnet.

	g	Tørstof g	P g	Ca g	Fytin-P g
Dagligt Foder (som Fors. Y 43 IX)		1582,7	9,17	5,96	6,13
Gødning gennemsnitl. pr. Dag	920	306,0	5,64	3,85	
Urin gennemsnitl. pr. Dag	2805		1,62	0,19	
Resorption g			3,53	2,11	
do. pCt.			38,5	35,4	
Retention g			1,91	1,92	
do. pCt.			20,8	32,2	

Fig. 4. Vægtkurver.





**Om kvantitativ Bestemmelse af
Proteinstoffer, Polypeptider og Aminosyrer
i vore Fodermidler.**

Af

Grete Thorbek.

INDHOLDSFORTEGNELSE

	Side
I. Indledning	45
II. Bestemmelse af Proteinkvælstoffet	49
III. Bestemmelse af Aminosyrekvælstoffet	57
1. Formoltitrering af rene Aminosyrer	59
2. Formoltitrering af Filtratet fra Renproteinfældningen	67
a. Hydrolyse	67
b. Fjernelse af Ammoniumsalte	69
c. Fjernelse af Karbonater og Fosfater	70
d. Beskrivelse af Analysemetoden	71
e. Analysemetodens Afprøvning ved Hjælp af rene Aminosyrer ..	73
IV. Analyse af forskellige Fodermidler	77
Resumé	79
Litteratur	81

I. Indledning.

En kvantitativ Bestemmelse af de kvælstofholdige Forbindelser i vore Fodermidler, der kan udnyttes til Syntese af dyrisk Protein, har i de senere Aar med den udstrakte Anvendelse af Roer og Ensilage faaet forøget Betydning. I den almindelige Foderstofanalyse skelnes der mellem den totale Kvælstofmængde, bestemt ved en *Kjeldahl*-Analyse og Renproteinkvælstof bestemt efter *Stutzer-Barnsteins* Metode ved Fældning med Kobber. Differensen mellem disse to Størrelser benævnes ofte »Amidstoffer«.

Ved en Vurdering af disse Kvælstoffraktioners Anvendelighed til den dyriske Syntese har man regnet Renproteinet som fuldt ud anvendeligt, medens »Amidstofferne« ikke har været tillagt nogen Værdi. En saadan Vurderingsmetode er brugelig, saa længe det drejer sig om Oliekager, Korn eller andre Fodermidler, hvor Størsteparten af Kvælstoffet findes som Renprotein, men saasnart det drejer sig om forskellige Saftfodermidler som Roer, Ensilage og lign., hvor Renproteinet undertiden kun udgør Halvdelen af det samlede Kvælstofindhold, bliver det nødvendigt at undersøge, hvorvidt »Amidstoffractionen« indeholder Kvælstofforbindelser, der kan udnyttes til Proteinsyntese af Dyret, og saafremt det er Tilfældet, da at ændre Analysemetoderne, saaledes at det bliver muligt at bestemme *den samlede Kvælstofmængde, der kan finde Anvendelse ved Syntesen af det dyriske Protein.*

I vore Fodermidler indgaar der Kvælstofforbindelser af vidt forskellig Natur og Sammensætning, og naar man skal bedømme deres Anvendelighed til Proteinsyntese, er det nødvendigt at inddele dem i visse større Grupper. En saadan Gruppering, der indeholder de fleste af de Kvælstofforbindelser, der kan være Tale om i vore Fodermidler, fremgaar af nedenstaaende Oversigt, der er gengivet efter *Møllgaard* (11):

1. Ægte Proteinstoffer og højmolekulære Polypeptider
 2. Polypeptider af faa Aminosyrer
 3. Aminosyrer: $R.CH.NH_2.COOH$
-
4. Syreamider: $R.CH_2.CO.NH_2$
 5. Ammoniumsalte: $S-NH_4^+$
-
6. Metylerede Aminosyrer og deres Betainer
 7. Glycosider
 8. Alkaloider
 9. Nitrater
 10. N-holdige Vitaminer (B-Gruppen)

Om Anvendeligheden af disse Grupper skriver *Møllgaard* (11), at Gruppe 1, 2 og 3 maa anses som ubetinget anvendelig til Proteinsyntese, idet som bekendt samtlige Proteinstoffer og Polypeptider skal hydrolyseres til Aminosyrer, inden de kan resorberes igennem Tarmkanalen.

Med Hensyn til Anvendeligheden af Syreamider og Ammoniumsalte (Gruppe 4 og 5) drejer det sig om, hvorvidt Dyret selv er i Stand til paa Grundlag af organiske Syrer og Ammoniumioner at danne Aminosyrer. Herom vides det, at Organismen i nogen Udstrækning er i Stand til at danne enkelte Aminosyrer paa Grundlag af saadanne Forbindelser, men at man i de fleste Tilfælde maa regne med, at Organismen ikke er i Stand til at opbygge den til Aminosyren svarende Ketosyre, saaledes at man kun kan regne med en begrænset Aminosyresyntese paa Grundlag af Syreamider og Ammoniumsalte.

Paa den anden Side kan der hos Drøvtyggerne være Tale om en Opbygning af Bakterierprotein i Vommen paa Grundlag af Syreamider og Ammoniumsalte, hvorved Forbindelser under disse to Grupper indirekte kan komme Dyret til Gode, efterhaanden som Bakterierne dør og føres ud i Tarmkanalen, hvor de underkastes den almindelige Fordøjelse og Resorption. Hvor stor Betydning denne microbielle Proteinsyntese har, er endnu ikke fastslaaet, idet de forskellige Forsøg, der er udført herover, har givet meget varierende Resultater. Denne Variation skyldes muligvis, at Infektionen med Microorganismer i Vommen varierer meget, idet *Klein* og *Müller* (9) mener at have paavist, at kun under Forudsætning af en Infektion med *Anthomyces Reukauffii* (Korsgær) kan man forvente en nævneværdig Syntese af Bakterierprotein paa Grundlag af organiske Syrer og Ammoniak.

Til den sjette Gruppe, de metylerede Aminosyrer og deres Anhydrid-der, de saakaldte Betainer, hører Forbindelser, der er meget udbredte hos Planterne, saaledes forekommer Trimetyloxyglycin i større Mængder i alle Roearter, derimod har man ikke fundet det i den dyriske Organisme, og ved Fodring dermed udskilles Hovedparten af det i Urinen. Lignende Forhold gør sig gældende for andre Forbindelser, der hører under denne Gruppe, saaledes at vi antagelig kan regne med, at de metylerede Aminosyrer og deres Betainer ingen Betydning har for Dyrets Proteinsyntese.

Glucosider og Alkaloider (Gruppe 7 og 8) maa anses for uanvendelige, idet det ofte er Stoffer med Giftvirkning eller Forbindelser af en saadan Sammensætning, der ikke findes eller i hvert Fald er langt fjærnet fra de Forbindelser, vi finder i den dyriske Organisme.

Nitraterne (Gruppe 9) maa ligeledes anses for uanvendelige, idet man regner med, at Nitratet sønderdeles i Vommen.

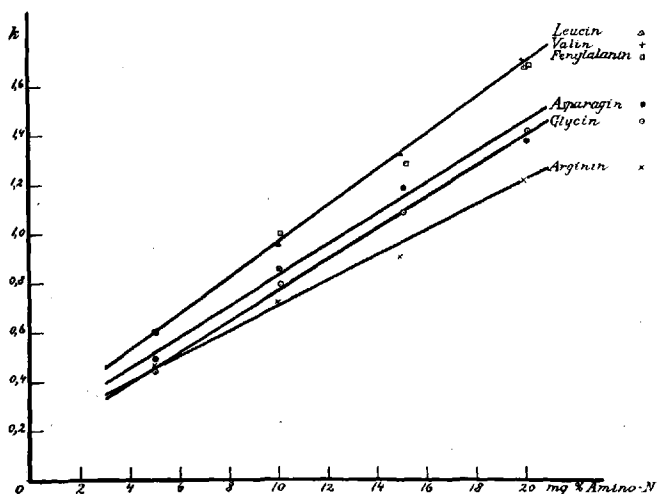
Den sidste Gruppe, de N-holdige Vitaminer, er en for Dyrenes Trivsel meget betydningsfuld Gruppe, men de Mængder, hvori de forekommer, er saa ringe, at de analytisk set ingen Rolle spiller.

Efter denne Oversigt maa man regne de tre første Grupper som fuldt ud anvendelige til Proteinsyntese. Værdien af Syreamider og Ammoniumsulte er endnu ikke fuldt ud klarlagt, idet der muligvis skal være visse Betingelser til Stede, for at disse Forbindelser kan udnyttes, og indtil disse Forhold er blevet klarlagt, maa det være berettiget at se bort fra Indholdet af disse Grupper. De sidste fem Grupper maa anses for uanvendelige til Proteinsyntese. Det drejer sig herefter om at faa udarbejdet en Fremgangsmaade, som uden at blive for kompliceret, tillader en Bestemmelse af samtlige Proteinstoffer, Polypeptider og Aminosyrer.

Vi har tidligere her paa *dyrefysiologisk Laboratorium* (25) foretaget en Del Bestemmelser af Renprotein-N og Aminosyre-N i Roer og Roetopensilage. Renproteinet blev bestemt efter *Stutzer-Barnsteins* Metode, og i det inddampede Filtrat herfra blev Aminosyrebestemmelsen foretaget efter *van Slykes* Metode (18). Ved denne Fremgangsmaade fik vi ikke bestemt Mængden af de Polypeptider, der fandtes i Filtratet, idet disse ikke reagerer med Salpetersyring. Desuden fandt vi *van Slykes* Metode mindre velegnet, naar Koncentrationen af Aminosyrerne var for ringe, og det var paa den anden Side ikke muligt at forøge denne, saafremt Analyserne skulde udføres i Tilknytning til Renproteinbestemmelserne.

Vi undersøgte derfor, om det var muligt at benytte *Folins* Metode (6) til Bestemmelse af Aminosyrerne. Metoden beror paa, at de forskellige Aminosyrer med en Opløsning af Na- β -Naftokinonsulfonsyre danner et rødt Farvestof, hvis Intensitet derefter kan maales i et Koloriskop eller i et Pulfrich-Fotometer. Med denne Fremgangsmaade, der er beskrevet i *Klinische Kolorimetrie mit dem Pulfrich Photometer* (10), undersøgte vi derefter Extinktionskurverne for 10 forskellige rene Aminosyrer (la Roche, Schering, Schuchardt m. fl.) og fandt derved, som det fremgaar af nedenstaaende Kurver (Fig. 1), at disse varierede saa meget, at vi ikke mente at kunne anvende denne Metode.

Fig. 1. Extinktionskurver for forskellige Aminosyrer.



Samtidig med denne Undersøgelse fremkom *Blom* og *Schmith* (4) med deres Beskrivelse af Formoltitrering med Glaselektrode, og da denne Fremgangsmaade syntes at passe til de Forhold, vi arbejdede under, blev det besluttet at undersøge, hvorledes denne Metode kunde knyttes sammen med en Bestemmelse af Renproteinet og en Hydrolyse af Polypeptiderne, saaledes at vi fik bestemt alt det anvendelige Kvælstof.

I de følgende Afsnit vil der blive gjort nærmere Rede for disse Undersøgelser.

II. Bestemmelse af Proteinkvælstoffet.

Der findes talrige, saavel fysiske som kemiske Metoder til Adskillelse af Proteinkvælstoffet fra de opløselige Kvælstofforbindelser. I Foderstofanalysen anvendes hyppigst den af *Stutzer* (19) allerede i 1881 foreslaaede Fældning med ren Kobberhydroxyd. Metoden blev senere forbedret af *Barnstein* (3), som lod Kobberhydroxydet dannes under selve Analysens Gang ved først at tilsætte Kobbersulfat og derefter Natriumhydroxyd. Ved *Stutzer*-Metoden opnaas kun en daarlig Adskillelse mellem Proteinstofferne og de opløselige Kvælstofforbindelser, idet forskellige Undersøgelser har vist, at en Del N-holdige Forbindelser, der ikke hører til Proteinstofferne, fældes eller rives med ved Kobberfældningen.

Saaledes har bl. a. *Roth* (15) undersøgt, hvorledes forskellige Fældningsmidler paavirker en lang Række Aminosyrer, Amider og andre N-holdige Forbindelser og fundet, at ved *Stutzer*-Metoden bliver en Del af disse Forbindelser fældet eller revet med ved Fældningen, medens *Uranylacetat*, *Tannin* og *Trikloredikesyre* ikke paavirker de tilsatte Stoffer.

Schoenebeck (17) anvender til sine Fældninger *Uranylacetat* eller *Metafosforsyre*. Det sidstnævnte er bl. a. undersøgt af *Pfützer* og *Roth* (13), der anbefaler det som et udmærket Fældningsmiddel, der ikke fælder Aminosyrer, Polypeptider eller andre ikke-proteinagtige Forbindelser.

Allen, *Rauterberg* og *Knippenberg* (1) angiver Fældning med *Trikloredikesyre* som den bedste Metode ved denne Art af Undersøgelser, og til det samme Resultat kommer *Poppoff* (14) ved sine Bestemmelser.

Allen m. fl. (1) har i nogle Tilfælde benyttet *Varmekoagulation* og faaet samme Resultat med denne Metode som ved Fældning med *Trikloredikesyre*.

Fældning med *Trikloredikesyre* er først anvendt af *Greenwald*, og Metoden er bl. a. beskrevet af *Keyssner* og *Tauböck* (8), der fremhæver dens ret store Udbredelse bl. a. paa Grund af, at Fældningsmidlet ikke virker forstyrrende ved Filtratets videre Behandling.

Ved *Varmekoagulation* denatureres Proteinstofferne først, og derefter følger Udfældningen af det denaturerede Proteinstof (*Sørensen* og *Sørensen*, 23). Udfældningen er afhængig af Brintionkoncentrationen i Opløsningen, saaledes at den maximale Udfældning naas ved Protein-

stoffets isoelektriske Punkt. *Sørensen* og *Jürgensen* (22) har for Koagulation af Blodserum og Hønsæggehvide fundet den optimale Brintionkoncentration til pH 4,7, og samtidig vist at Optimal-Brintionkoncentrationen er afhængig af Proteinopløsningens Koncentration samt af Opløsningens Saltindhold.

Paa Grundlag af de her refererede Undersøgelser besluttede vi at sammenligne Varmekoagulation med Fældning med Trikloredikesyre, idet vi mente, at disse to Metoder bedst opfyldte de stillede Krav: at fælde de flest mulige Protein-stoffer uden at fælde de opløselige Kvælstofforbindelser og at give et Filtrat, der var bekvemt at arbejde med, da det ikke kom til at indeholde Stoffer, der vanskeliggjorde Hydrolysen eller Aminosyrebestemmelsen. Af Hensyn til Sammenligning med andre Undersøgelser er der i de fleste Tilfælde ogsaa foretaget en Bestemmelse efter Stutzer-Metoden.

De anvendte Metoder er udført efter følgende Forskrifter:

1. *Fældning ved Varmekoagulation.* Det afvejede Stof svarende til 20—30 mg N blandes i en Kjeldahl-Kolbe med 100 ml Stødpudeblanding (Eddikesyre + Acetat, se nedenfor) og opvarmes 1 Time paa kogende Vandbad under jævnlig Omrystning, derefter afkøles og filtreres gennem Foldefilter. Bundfaldet udvaskes 3 Gange med Vand, hvorefter det tørres sammen med Filtret, og Kvælstofindholdet bestemmes paa sædvanlig Maade ved en Kjeldahl-Analyse.

Som det vil fremgaa af Forsøgene, har der været anvendt Stødpudeblandinger med noget varierende pH. Den Stødpudeblanding, vi til Slut har valgt at benytte, har bestaaet af *lige Dele 0,1 m Eddikesyre og 0,1 m Natriumacetat* (6,0 g Iseddikesyre + 1000 ml Vand og 13,6 g Natriumacetat + 1000 ml Vand), hvorved pH ved Fældningen kommer til at ligge omkring 4,8, noget afhængig af det Foderstof, der arbejdes med.

2. *Fældning med Trikloredikesyre.* Det afvejede Stof svarende til 20—30 mg N blandes i en Kjeldahl-Kolbe med 80 ml Vand og opvarmes 1 Time paa kogende Vandbad. Efter Afkøling tilsættes 25 ml Trikloredikesyre (10 pCt.) og omrystes. Analysen henstilles til næste Dag, hvorefter Bundfaldet filtreres fra paa et Foldefilter, vaskes 3 Gange med fortyndet Trikloredikesyre (2 pCt.) og tørres. I det tørrede Bundfald og Filter bestemmes Kvælstofindholdet paa sædvanlig Maade.

Ved Analyse af meget stivelsesholdige Produkter kan det være nødvendigt, som angivet af *Allen* m. fl. (1) at tilsætte 30 ml Alkohol

(96 pCt.) efter Tilsætning af Trikloredikesyren, og desuden mener vi, at man i saa Tilfælde bør lade Vaskevandet indeholde 25 pCt. Alkohol, idet det letter Filtreringen betydeligt.

3. *Fældning efter Stutzer-Barnstein* er i det væsentlige udført efter den i *Arbejdsmetoder for kemiske Undersøgelser af Mælk og Mejeriprodukter, Foderstoffer* m. m. (2) angivne Fremgangsmaade, idet det afvejede Stof svarende til 20—30 mg N blandes med 80 ml Vand i en Kjeldahlkolbe og opvarmes $\frac{1}{2}$ Time paa kogende Vandbad. Derefter tilsættes 5 ml Kaliumaluminiumsulfat (5 pCt.), 20 ml Kuprisulfat (10 pCt.) og i smaa Portioner under kraftig Omrystning 20 ml Natriumhydroxyd (2,5 pCt.). Efter Afkøling filtreres Bundfaldet fra, vaskes grundigt 3 Gange med Vand og tørres. I det tørrede Bundfald og Filter bestemmes Kvælstofindholdet paa sædvanlig Maade.

De første Undersøgelser blev foretaget med Roetopensilage som Analysegrundlag. Roetoppen var blevet nedlagt ca. 8 Maaneder tidligere, ved Ensileringen blev den vaskede Top sønderdelt og derefter stampet sammen uden Anvendelse af specielle Ensileringsvæsker. Den udtagne Ensilageprøve blev hakket fint, og til hver Analyse blev der udvejet ca. 10 g.

En orienterende Undersøgelse havde vist, at et Filtrat af Roetop-ensilage efter Varmekoagulation holdt sig klart efter Tilsætning af Trikloredikesyre, selv ved 24 Timers Henstand. I det første Forsøg sammenlignede vi derfor Varmekoagulation efter $\frac{1}{2}$ og 1 Times Kogning med almindeligt Vand med Fældning med Trikloredikesyre og med Stutzer-Metoden. pH ved Varmekoagulationen lå omkring 4,3 svarende til Ensilagens pH.

TABEL 1.

Sammenligning mellem forskellige Fældningsmetoder til Bestemmelse af Renprotein i Roetopensilage.

Fældningsmetode	Renprotein N %
Varmekoagulation med Vand $\frac{1}{2}$ Times Opvarmning	0,155
» » » 1 » »	0,155
Trikloredikesyre	0,153
Stutzer	0,181

Som det fremgaar af Tabel 1, har 1 Times Opvarmning ikke givet nogen yderligere Udfældning af Proteinoffer i Forhold til $\frac{1}{2}$ Times

Opvarmning. Filtreringen synes derimod at forløbe noget lettere efter 1 Times Opvarmning, og ved de fremtidige Analyser benyttes derfor 1 Times Opvarmning. Som det var at vente efter de foreløbige Undersøgelser giver Fældning med Trikloredikesyre det samme Resultat som Varmekoagulation, derimod giver Stutzer Fældningen et Resultat, der ligger ca. 17 pCt. højere.

I dette Forsøg er der som omtalt benyttet alm. Vand ved Varmekoagulationen, men da det er nødvendigt at arbejde indenfor et ret snævert pH-Område, hvis man vil opnaa reproducerbare Værdier, er der i det næste Forsøg, der er udført paa en ny Prøve af Roetop-ensilage, benyttet en Stødpudeblanding af Eddikesyre + Acetat med pH 4,75. Da Ensilagen selv indeholder mange Stødpuder, forskydes pH til 4,4 ved Tilsætning af Stødpudeblandingen.

Tabel 2 viser, at Opvarmning med Eddikesyre-Acetatstødpude i Stedet for alm. Vand ikke medfører nogen Ændring i den udfældede Proteinmængde.

TABEL 2.

Sammenligning mellem forskellige Fældningsmetoder til Bestemmelse af Renprotein i Roetopensilage.

	pH ved Fældning	Renprotein Enkelt- analyser	N % Middel
Varmekoagulation med Vand	4,33	0,155	
1 Times Opvarmning	4,25	0,160	0,158
	4,25	0,160	
Varmekoagulation med Eddikesyre-	4,43	0,160	
Acetatblanding pH 4,75	4,41	0,156	0,158
1 Times Opvarmning	4,38	0,159	
		0,188	
Stutzer		0,190	0,188
		0,186	

I det sidste Forsøg med Roetopensilage er det blevet undersøgt, om en Tilsætning af Glycin, Asparagin og Arginin til Roetopensilage paa-virker Indholdet af Renprotein bestemt ved Varmekoagulation med en Eddikesyre-Acetatblanding (pH 4,75). Efter Afvejning af Roetopensila-gen er der til hver Analyse tilsat 1—1,5 m. ækv. Aminosyre, hvorefter Fældningen er foretaget paa sædvanlig Maade.

TABEL 3.

Indholdet af Renprotein efter Tilsætning af Aminosyrer. Roetopensilage.
 Fældet ved Varmekoagulation med Eddikesyre-Acetatløsning (pH 4,75)
 pH ved Fældningen ca. 4,4.

		Tilsat Aminosyre g	Renprotein N % Enkelt- analyser	Middel
Roetopensilage ÷ Aminosyrer		—	0,156 0,157 0,155	0,156
do.	+ Glycin	0,1043	0,159	0,159
		0,1035	0,157	
		0,1142	0,161	
do.	+ Asparagin	0,1749	0,157	0,158
		0,1486	0,157	
		0,1578	0,160	
do.	+ Arginin	0,1485	0,178	0,177
		0,1720	0,174	
		0,1783	0,179	

Det fremgaar af Tabel 3, at Tilsætning af Glycin og Asparagin ikke har paavirket Indholdet af Renprotein, idet vi finder omtrent de samme Værdier som for Roetopensilage uden Tilsætning af Aminosyrer. Derimod har Tilsætning af Arginin forhøjet Indholdet af Renprotein med ca. 13 pCt., hvilket muligvis kan skyldes, at Argininet hænger saa fast ved de koagulerede Proteinstoffer, at det ikke er muligt at faa det vasket fuldstændigt ud. Forsøget kunde desværre ikke gentages, da vi ikke havde mere Arginin og for Øjeblikket var ude af Stand til at fremskaffe noget.

Derimod blev Forsøget gentaget med en Del andre Aminosyrer, idet vi benyttede Lucernemel som Analysegrundlag og tilsatte 1—1,5 m. ækv. Aminosyre til hver Analyse. Til Varmekoagulationen benyttedes en Eddikesyre-Acetatløsning med pH 4,4, hvorved pH ved Fældningen kom til at ligge omkring 4,5.

Som det fremgaar af Tabel 4, har ingen af de undersøgte Aminosyrer paavirket Indholdet af Renprotein i nogen væsentlig Grad, og som det vil fremgaa af de senere omtalte Undersøgelser vedrørende Aminosyrebestemmelsen, genfindes de tilsatte Aminosyrer næsten fuldstændig i Filtratet.

TABEL 4.

Indholdet af Renprotein efter Tilsætning af Aminosyrer. Lucernemel.
 Fældet ved Varmekoagulation med Eddikesyre-Acetatløsning (pH 4,4)
 pH ved Fældningen ca. 4,5.

		Renprotein N %
Lucernemel	÷ Aminosyrer	2,21
do.	+ Glycin	2,20
do.	+ Alanin	2,20
do.	+ Leucin	2,20
do.	+ Fenylalanin	2,22
do.	+ Asparaginsyre	2,18
do.	+ Glutaminsyre	2,18
do.	+ Taurin	2,19

Da Aminosyrerne åbenbart ikke påvirkes af en Varmekoagulation, og da Biuretpøver i Filtraterne har vist, at samtlige Protein-stoffer er blevet udfældet, har vi valgt at benytte *Varmekoagulation ved Bestemmelse af Proteinkvælstoffet*.

Inden vi gik over til en Bestemmelse af Aminosyrekvælstoffet, har vi undersøgt, hvorledes man bør forholde sig ved Varmekoagulation af stærkt *stivelsesholdige* Stoffer, der ikke kan filtreres og udvaskes ordentlig efter 1 Times Opvarmning til ca. 100°. Som bekendt anvendes efter Stutzer Metoden Opvarmning til 60° i 2 Timer overfor saadanne Stoffer, men denne Fremgangsmaade kan ikke benyttes, hvor Udfældningen af Protein-stofferne alene beror paa en Varmekoagulation, idet Resultaterne bliver for lave og ikke er ordentlig reproducerbare. Allen (1) anvender som tidligere omtalt Tilsætning af Alkohol overfor stivelsesholdige Stoffer efter Fældning med Trikloredikesyre, og vi undersøgte derfor, om det var muligt at gennemføre Filtrering efter Tilsætning af Alkohol efter Varmekoagulation, og om denne Tilsætning havde nogen Indflydelse paa Resultaterne.

Da det viste sig, at Filtreringen kunde gennemføres efter Tilsætning af Alkohol, foretog vi en Sammenligning mellem følgende Fremgangsmaader:

I. (Standard) Varmekoagulation i 1 Time med en Eddikesyre-Acetatløsning (pH 4,75). Filtrering umiddelbart efter Afkøling.

II. Samme Fremgangsmaade som for I med Undtagelse af Henstand til næste Dag inden Filtreringen fandt Sted.

III. Varmekoagulation som under I, men efter Afkøling Tilsætning af 30 ml Alkohol (96 pCt.) og derefter Henstand til næste Dag.

IV. Fældning med Trikloredikesyre som beskrevet Side 50 og derefter Tilsætning af 30 ml Alkohol og Henstand til næste Dag.

V. Stutzermetoden.

Vaskevandet til Fremgangsmaade III og IV har indeholdt 25 pCt. Alkohol.

Da vi først ønskede at undersøge Variationerne efter de forskellige Fremgangsmaader, blev Lucernemel benyttet som Analysegrundlag, idet samtlige Fældningsmetoder kunde bringes til Anvendelse overfor dette Stof.

TABEL 5.

Sammenligning mellem forskellige Fældningsmetoder til Bestemmelse af Renprotein. Lucernemel.

Fældningsmetode	Renprotein N %
I. Varmekoagulation. E + A-Blanding (pH 4,75). Filtrering straks	2,27
II. Varmekoagulation. E + A-Blanding (pH 4,75). Filtrering efter 24 Timer	2,27
III. Varmekoagulation. E + A-Blanding. + 30 ml Alk. Filtrering efter 24 Timer	2,25
IV. Trikloredikesyre. + 30 ml Alk. Filtrering efter 24 Timer ..	2,30
V. Stutzer	2,52

Det fremgaar af Tabel 5, at man faar samme Resultat af Varmekoagulationen, om man filtrerer umiddelbart efter Afkølingen, eller man lader Analysen afkøles langsomt og henstaa til næste Dag. Tilsætningen af Alkohol efter Varmekoagulationen har givet lidt lavere Resultat, og Fældning med Trikloredikesyre har givet lidt højere Resultat end Standardmetoden, men Afvigelsen er ringe og i Almindelighed har vi fundet tilsvarende højere henholdsvis lavere Værdier for Aminosyreindholdet, saaledes at Summen af anvendeligt Kvælstof har været ens efter alle fire Fremgangsmaader (I—IV). Stutzermetoden har som sædvanlig givet væsentlig højere Resultat for Renproteinet.

Efter disse Undersøgelser har vi ment, at det var berettiget at anvende Metode III eller IV overfor stivelsesholdige Stoffer, der ikke lader sig analysere efter Standardmetoden (I), og vi har derefter foretaget en Sammenligning mellem disse to Metoder overfor Kartofler samt de fire Kornarter, Byg, Havre, Hvede og Rug. Kornarterne er medtaget mere af systematiske end af praktiske Grunde, da disse Metoder til Bestemmelse af anvendeligt Kvælstof, som tidligere omtalt,

kun kan forventes at faa Interesse for Grovfodermidler og ikke for Kornarter og lign., hvor Indholdet af Renprotein nærmer sig det totale Kvælstofindhold. Til Sammenligning er desuden medtaget Bestemmelserne efter Stutzermetoden.

De raa, vaskede Kartoffler er blevet findelt paa Kød hakkemaskine inden Analyseringen, og Kornarterne er som sædvanlig blevet fint formalede.

TABEL 6.

Indholdet af Renprotein efter forskellige Fældningsmetoder. III—IV og V.

Foderstof	Renprotein N % efter Fældningsmetode		
	III Varme- koagulation + Alkohol	IV Triklor- eddikesyre + Alkohol	V Stutzer
Kartofler	0,195	0,197	0,242
Byg	1,12	1,14	1,24
Havre	1,30	1,33	1,43
Hvede	0,846 0,856	1,09	1,27
Rug	0,916 0,951 0,909	1,02	1,16

Samtlige undersøgte stivelsesholdige Foderstoffer lader sig let filtrere efter Tilsætning af Alkohol. Stutzer-Metoden udføres som sædvanlig overfor denne Slags Stoffer med Opvarmning i 2 Timer til 60°. Som det fremgaar af Undersøgelserne, har Metode III og IV givet omtrent samme Resultat for Kartoffler, Byg og Havre med en ringe Forskydning til Fordel for Trikloredikesyrefældningen, hvor vi i Lighed med Forholdene for Lucernemel finder lidt mere Renprotein, men ogsaa i disse Tilfælde finder vi tilsvarende lidt mindre Aminosyrekvælstof, saaledes at Summen af anvendeligt Kvælstof bliver den samme.

Derimod er det ikke muligt at faa overensstemmende Resultater efter Varmekoagulation + Alkohol (III) for Hvede og Rug. (De anførte Tal for Varmekoagulationen refererer sig til Enkeltanalyser, medens de øvrige Tal her som overalt i Afhandlingen er Middeltal af flere Analyser med den for vedkommende Analyse tilladelige Varia-

tionsbredde). Denne Uoverensstemmelse mellem Enkeltanalyserne for Hvede og Rug samt de forholdsvis lave Værdier skyldes muligvis deres Indhold af Gliadin, der er opløselig i fortyndet Alkohol og muligvis ikke denatureres fuldstændig ved Varmekoagulationen.

Saadanne alkohopløselige Proteiner er hidtil kun fundet hos Kornarterne (*Tillmans*, 24), og da disse som omtalt kun har mindre Interesse ved denne Art af Undersøgelser, fastholder vi Varmekoagulationen som den bedste Fældningsmetode for Grovfodermidlerne.

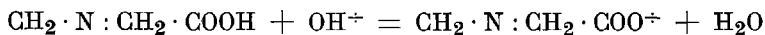
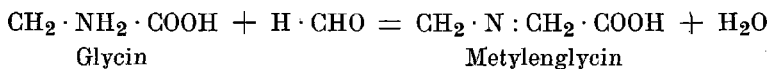
Som *Standardmetode* benytter vi herefter Varmekoagulation i 1 Time med 100 ml af en Stødpudeblanding bestaaende af lige Dele 0,1 m Eddikesyre og 0,1 m Natriumacetat, hvorved pH ved Fælden vil komme til at ligge omkring 4,8, noget afhængig af det Foderstof der arbejdes med.

Ved stærkt stivelsesholdige Stoffer tilsættes 30 ml Alkohol (96 pCt.) efter Varmekoagulationen, Analysen henstilles til næste Dag, og Ud-vaskningen sker med 25 pCt. Alkohol i Stedet for rent Vand. Denne Fremgangsmaade kan ogsaa anvendes overfor Byg og Havre, hvorimod det er nødvendigt at fælde med Trikloredikesyre ved Hvede og Rug.

III. Bestemmelse af Aminosyrekvælstoffet.

Siden *S. P. L. Sørensen* i 1907 (20) redegjorde for sine Undersøgelser over Formoltitrering af Aminosyrer har denne Metode vundet stor Udbredelse. Metoden hviler paa den af *Schiff* (16) gjorde Iagttagelse, at neutrale Opløsninger af Aminosyrer ved Tilsætning af Formaldehyd danner Metylenforbindelser af sur Karakter. *Schiff* isolerede en Del af disse Forbindelser, men *Sørensen* var den første, der benyttede denne Reaktion til Udarbejdelse af en Titreringsmetode til kvantitativ Bestemmelse af Aminosyrerne.

De Reaktionen, der foregaar, kan illustreres ved flg. Eks.:



Begge Processer er reversible, og det følger heraf, at man kun kan opnaa en fuldstændig Titration af Aminosyren under Forudsætning af et passende Overskud af Formaldehyd og Hydroxylioner. For at

sikre sig en passende Hydroxylionkoncentration benyttede Sørensen Fenoltalein som Indikator, idet han titrerede til stærk rød Farve »tredie Stadium«, svarende til pH 9,0—9,1. (Angaaende Enkeltheder vedrørende Analysens Udførelse henvises bl. a. til *H. Jessen-Hansen*: Die Formoltitration, 7).

Sørensen har undersøgt en lang Række Aminosyrer og fundet, at de kan formoltreres med Undtagelse af Arginin, der optræder som et neutralt Stof efter Tilsætning af Formaldehyd, men hvis Salt f. Eks. Hydrokloridet fuldstændig lader sig titrere som en eenbasisk Syre. Ved Formoltitrering af α -Prolin og Tyrosin faas lidt for lave henholdsvis for høje Resultater. Proteolytiske Nedbrydningsprodukter som Urinstof, Kreatin og Kreatinin kan ikke formoltreres, derimod kan Ammoniumsalte titreres, idet der dannes Hexametylentetramin.

Det fremgaar heraf, at Formoltitrering er en særdeles velegnet Metode til det Formaal, vi her beskæftiger os med; naar den alligevel ikke har vundet større Udbredelse indenfor dette Omraade, skyldes det antagelig, at de Opløsninger, der arbejdes med, som Regel er stærkt farvede, især hvor der forud for Titreringen er foretaget en Hydrolyse med Syrer. I saadanne farvede Opløsninger er det ikke muligt at bedømme Indikatorens Omslagspunkt, og man maa derfor enten foretage en Affarvning af Opløsningen eller anvende en Komparator. *Sørensen og Jessen-Hansen* (21) affarver ved at sætte Sølvnitrat til den saltsure Opløsning, hvorved de farvede Stoffer fælder ud sammen med Sølvkloridet.

De forskellige Fremgangsmaader til Afklaring af farvede Stoffer vil ofte medføre nogen Usikkerhed, og det maa derfor betegnes som et væsentligt Fremskridt, at *Blom og Schmith* (4) har udarbejdet en praktisk Metode til Formoltitrering med Glaselektrode, herved bortfalder ogsaa de specielle Stødpude- og Indikatoropløsninger, ligesom Analytikerens subjektive Farvesyn lades ude af Betragtning.

Det Apparat, der her paa Laboratoriet er blevet anvendt til Formoltitreringerne, bestaar af et Rørpotentiometer (Type pH M 1) og en Titreringsopstilling, begge Dele fremstillet af Firmaet »Radiometer«, København. Elektrodekæden bestaar af en Kalomelektrode og en Glaselektrode, hvis Stamme og Kabel er afskærmet af Hensyn til elektrostatiske Paavirkninger udefra. Skalaerne paa det Potentiometer, vi har anvendt, angiver Millivolt (mv), der derefter kan omregnes til de tilsvarende pH-Værdier ved Hjælp af en Indstillings-

kurve. Denne Kurve fremstilles ved at maale en Række »Sørensen-Opløsninger« med kendt pH. Kurven maa kontrolleres med passende Mellemrum. Paa nyere Typer af Rørpotentiometre kan man aflæse pH-Værdierne direkte paa Skalaerne.

Titreringsopstillingen er monteret paa et almindeligt Forsøgsstativ og bestaar af to Buretteer med fint udtrukket Spids, desuden er der paa Stativet fastgjort en lille Elektromotor, der ved Hjælp af en Glaspropel besørger Omrøringen under Titrationen. Den ene Burette benyttes til Saltsyre den anden til Natriumhydroxyd, den sidste Burette har vi sat i Forbindelse med Flasken med Natriumhydroxyd, saaledes at Paafyldningen af Buretten sker ved Indpumpning af kulsyrefri Luft i Flasken, Tilløbet til Buretten er samtidig indrettet saaledes, at vi ved Tilbageløbet automatisk faar en Nulpunktsindstilling.

Formalinet blev opbevaret i en brun Flaske med Normalslib forsynet med 25 ml Burette efter Pellet med fast Nulpunkt. Under Titrationen kunde Buretten skydes hen over Bægerglasset, saaledes at Formalinet kunde tilsættes, uden at det var nødvendigt at fjerne Bægerglasset fra selve Titreringsopstillingen. Ved at anvende Burette i Stedet for Pipette undgaar man den noget ubehagelige Opsugning i Pipetten.

De Undersøgelser, vi har foretaget, falder i to Afsnit, idet vi først har titreret en Del rene Aminosyrer til Fastlæggelse af Metylenforbindelsernes Titreringskurve og specielt deres Vendepunkt, samt undersøgt hvilken Indflydelse det vilde faa paa den kvantitative Bestemmelse af Aminosyrerne at titrere til en fastlagt pH-Værdi i Stedet for til Vendepunktet. Dernæst har vi undersøgt, hvorledes Filtratet fra Renproteinfældningen bør behandles med Hensyn til Hydrolyse af evt. Polypeptider og Fjernelse af Ammoniumforbindelser samt Karbonater og Fosfater, inden Formoltitreringen kan finde Sted.

1. Formoltitrering af rene Aminosyrer.

De Aminosyrer, der er blevet anvendt, er reneste Præparater fra forskellige Firmaer, og der har ikke været foretaget nogen Rensning af Præparaterne inden Titrationen.

Undersøgelsen er foretaget paa flg. Maade: I et 150 ml Bægerglas opløses 1—1,5 Milliækvivalent (m.ækv.) af Aminosyren i 50 ml kulsyrefrit Vand, hvorefter der tilsættes 25 ml Formalin (ca. 40 pCt., alm. Handelsvare). Bægerglasset anbringes paa Titreringsstativet, Elektroder og Omrører bringes paa Plads, hvorefter der titreres med 0,1 n

NaOH. mv-Aflæsningerne foretages med jævne Mellemrum, saaledes at Kurven kan optegnes i hele sin Udstrækning. Paa samme Maade titreres 25 ml Formalin tilsat 50 ml kulsyreft Vand, og denne Kurve optegnes ligeledes.

Med Undtagelse af Cystin opløses de undersøgte Aminosyrer let i Vand, evt. ved Opvarmning. Cystinet blev opløst i 50 ml 0,05 n HCl, og ved Beregningen blev den tilsatte Saltsyremængde fradraget.

Resultatet af disse Undersøgelser fremgaar af nedenstaaende Tabel og efterfølgende Kurver.

TABEL 7.
Formoltitrering af rene Aminosyrer.

	$\Delta \text{pH} / \text{NaOH}$ Max. ved pH	Afvejet Aminosyre m.ækv.	Fundet Aminosyrer ved Titration til			
			Vendepunkt m.ækv.	pH 8,80 Af- vigelse %	Vendepunkt m.ækv.	pH 8,80 Af- vigelse %
Glycin (Sørensen, Merck)	8,13	1,492	1,501	+0,6	1,510	+1,2
Alanin (la Roche)	8,80	1,490	1,479	-0,7	1,479	-0,7
Fenyl-a-Alanin (Schuchardt)	8,45	1,225	1,220	-0,4	1,238	+1,1
Valin (rac) Schuchardt)	8,75	0,877	0,842	-4,0	0,848	-3,3
Leucin (synth) (Kahlbaum)	8,78	1,096	1,083	-1,2	1,085	-1,0
Norleucin (Fraenkel og Landau) ..	8,70	1,019	1,006	-1,3	1,012	-0,7
Asparaginsyre (Merck)	8,94	1,582	1,572	-0,6	1,560	-1,4
Asparagin (Schering)	7,60	1,088	1,111	+2,1	1,117	+2,7
Glutaminsyre (la Roche)	8,80	1,522	1,508	-0,9	1,508	-0,9
Cystin (Schering-Kahlbaum)	8,33	1,093	1,070	-2,1	1,083	-0,9
Taurin (la Roche)	7,92	1,385	1,408	+1,7	1,412	+1,9
Histidin-mono-hydroklorid (Heyl og Co)	uskarpt	1,051	—	—	1,038	-1,3
Arginin (Schuchardt)	kan ikke formoltitreres direkte					
Kreatin (Schuchardt)	kan ikke formoltitreres					

Vendepunktet for de her undersøgte Aminosyrer varierer temmelig meget fra pH 7,6—8,9, dog saaledes at Halvdelen af dem grupperer sig omkring 8,7—8,9, medens de andre fordeler sig mere spredt fra 7,6 til 8,7. Vi har derfor, hvor der er Tale om en Blanding af Aminosyrer valgt at titrere til pH 8,8, og som det fremgaar af Tabellen, paa-virkes Afvigelserne mellem den afvejede og titrerede Mængde Aminosyre ikke væsentlig ved, at der titreres til pH 8,8 i Stedet for til Vendepunktet.

Fig. 2. Formoltitrering af Glycin.

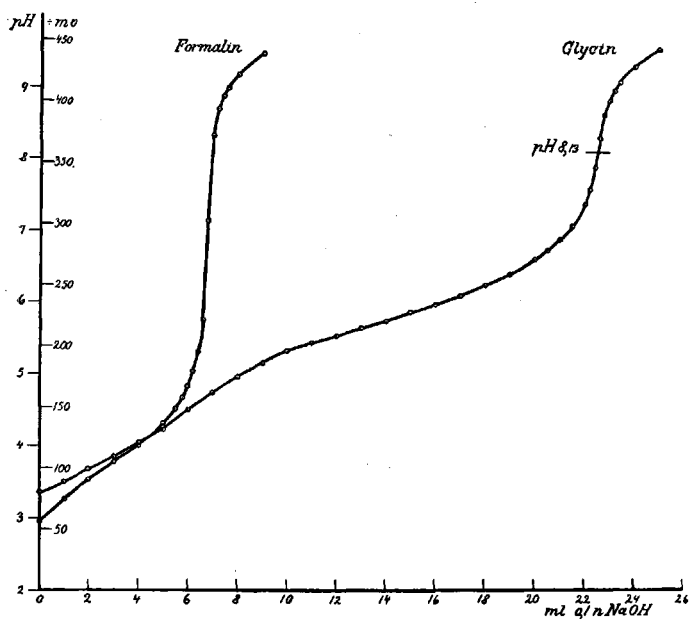


Fig. 3. Formoltitrering af Alanin.

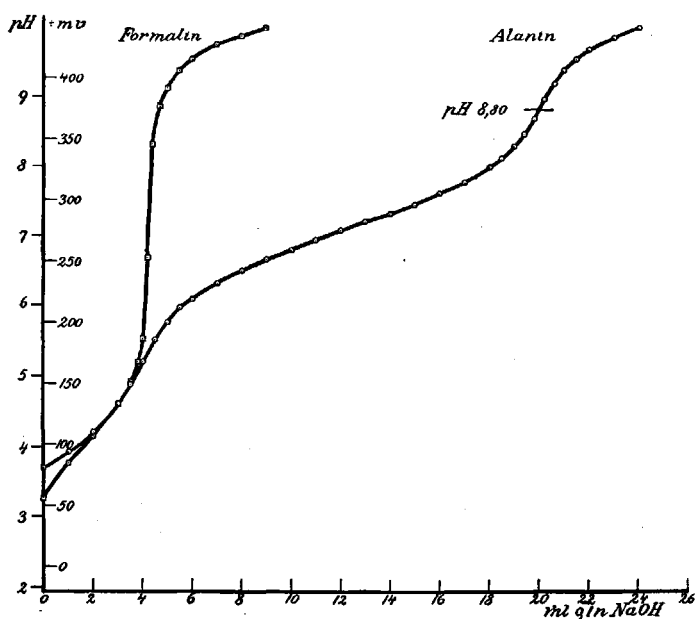


Fig. 4. Formoltitrering af Fenylalanin.

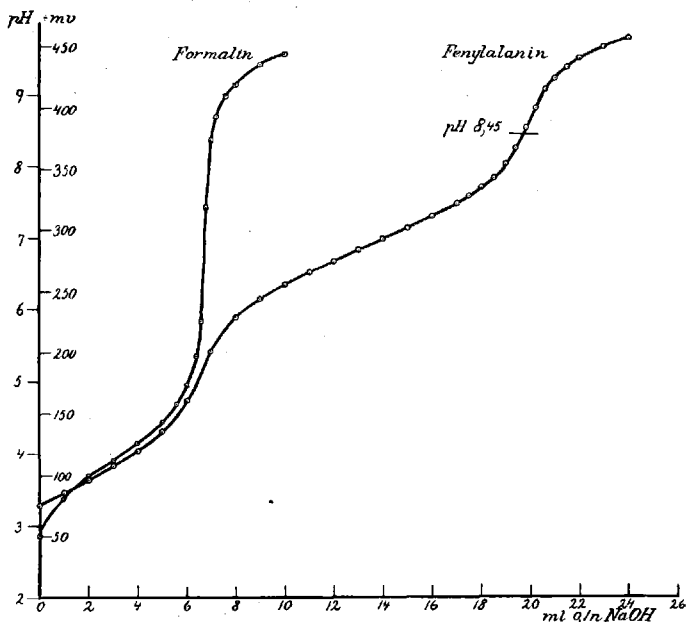


Fig. 5. Formoltitrering af Valin.

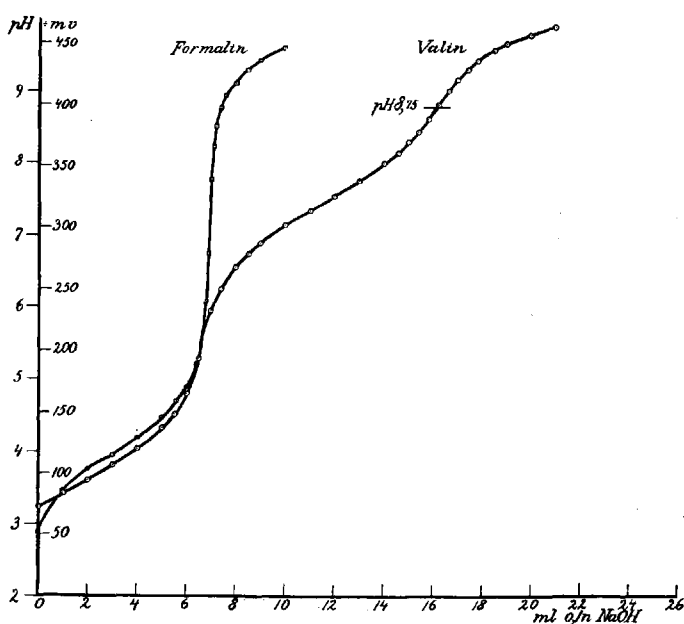


Fig. 6. Formoltitrering af Leucin.

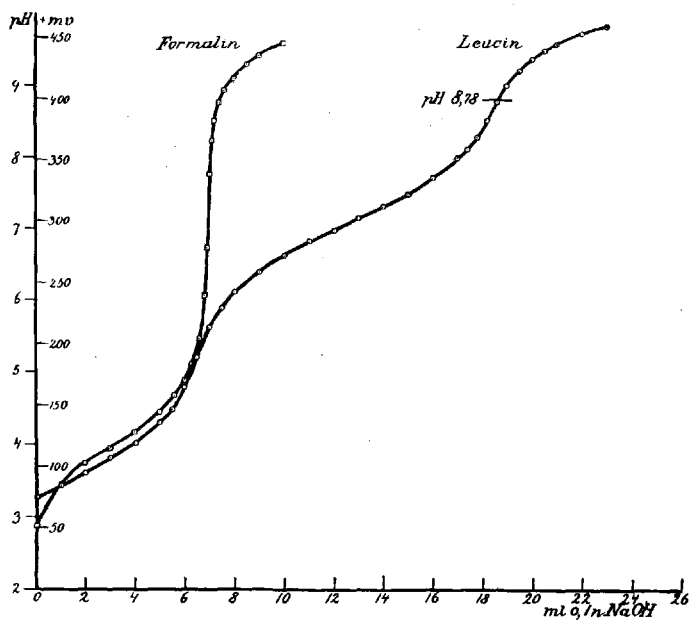


Fig. 7. Formoltitrering af Norleucin.

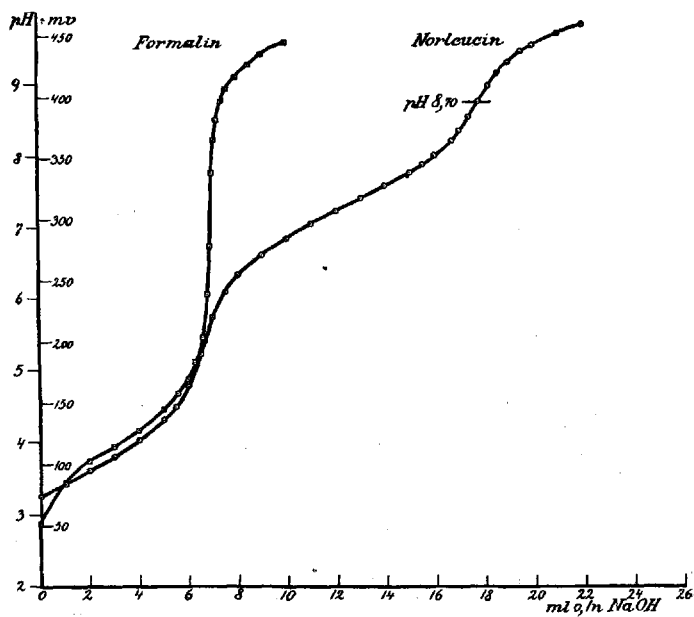


Fig. 8. Formoltitrering af Asparaginsyre.

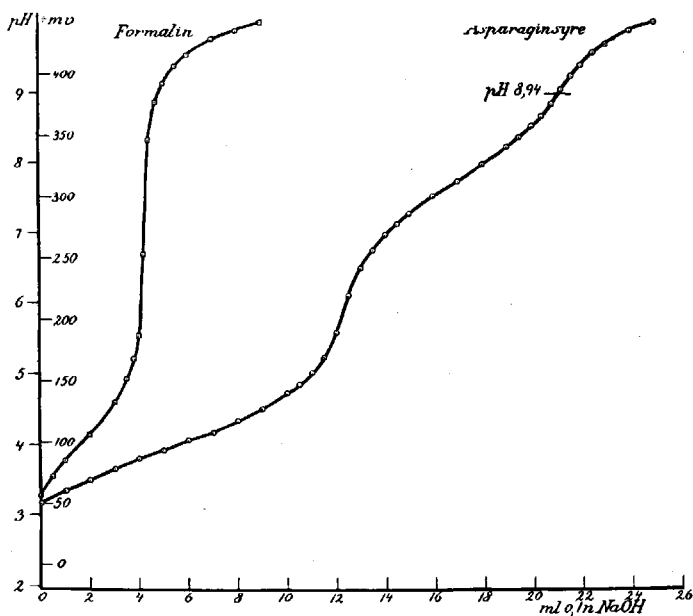


Fig. 9. Formoltitrering af Asparagin.

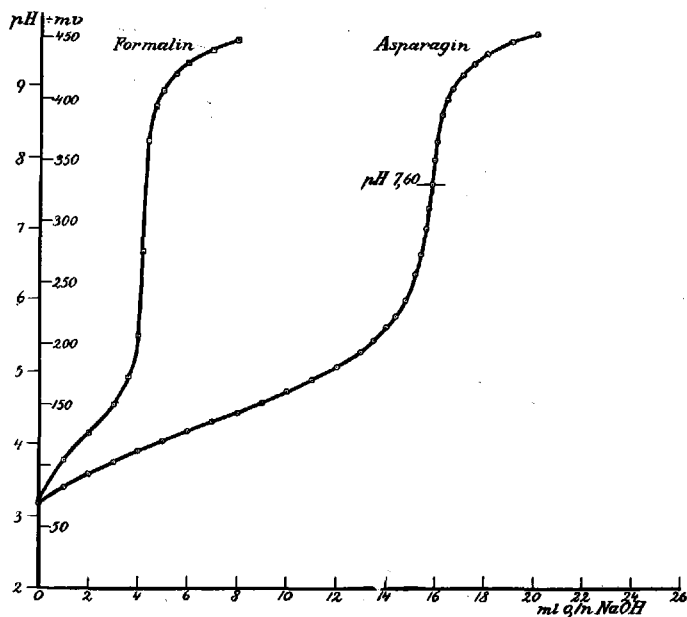


Fig. 10. Formoltitrering af Glutaminsyre.

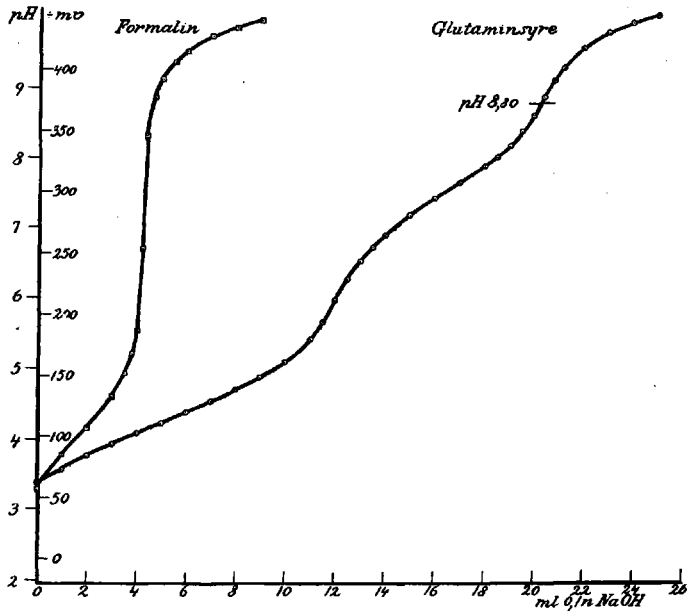


Fig. 11. Formoltitrering af Cystin.

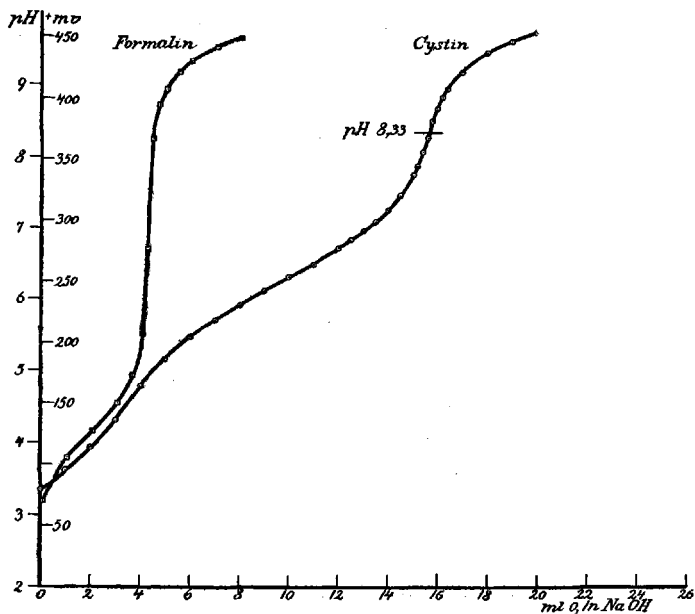


Fig. 12. Formoltitrering af Taurin.

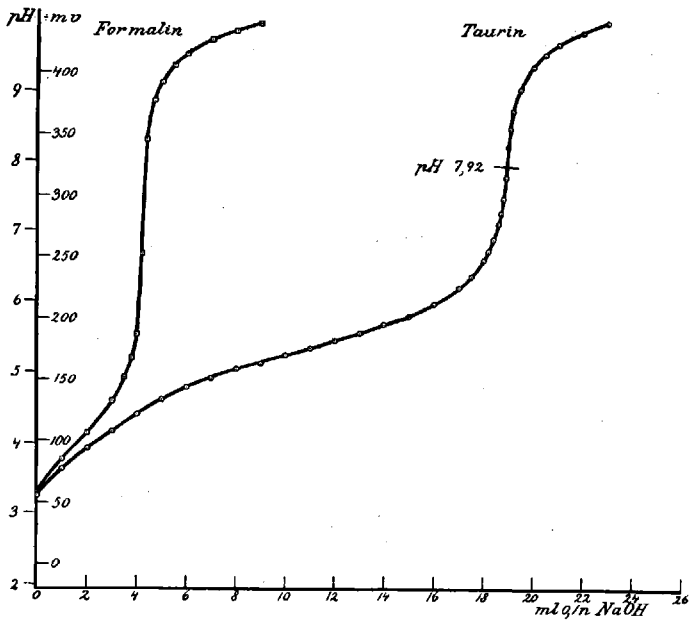
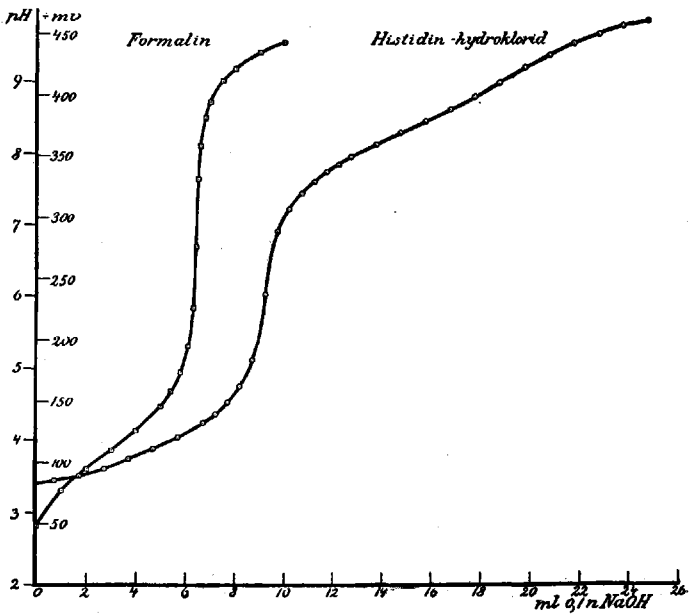


Fig. 13. Formoltitrering af Histidinhydroklorid.



Overensstemmelserne mellem de afvejede og titrerede Mængder maa anses for at være tilfredsstillende, maaske med Undtagelse af Titreringen af Valin. Forsøget kunde desværre ikke gentages, da vi ikke havde mere Stof, muligvis skyldes Afvigelsen en Urenhed, idet nogle af Krystallerne havde en brunlig Farve.

Med Hensyn til Kreatin og Arginin finder vi som angivet af Sørensen, at Kreatin ikke kan formoltreres, og at Arginin optræder som et neutralt Stof efter Tilsætning af Formol, men som det vil blive omtalt senere, kan Arginin formoltreres efter Hydrolyse med Saltsyre.

2. Formoltrering af Filtratet fra Renproteinfældningen.

Inden Formoltreringen kan foretages i Filtratet fra Renproteinfældningen, maa dette underkastes forskellige Behandlinger. Filtratet skal inddampes, de tilstedeværende Polypeptider hydrolyseres, saa de bliver formoltrerbare, og derefter skal Ammoniumsaltene samt evt. Karbonater fjernes, idet disse virker forstyrrende paa Formoltreringen. Inden den endelige Fremgangsmaade beskrives, skal der kort gøres Rede for nogle af de Undersøgelser, der er foretaget vedrørende disse Spørgsmaal.

a. Hydrolyse.

Filtratet fra Renproteinfældningen + Vaskevandet fylder i Almindelighed 3—400 ml og maa inden den videre Behandling inddampes til 40—50 ml. I Filtratet findes en Del Polypeptider afhængig af det Materiale, der arbejdes med. At det kan dreje sig om ret store Mængder viser et lille Forsøg med Roetopensilage, hvor Indholdet af Amino-N blev bestemt efter at det ene Hold var blevet hydrolyseret med 5 n HCl i 1 Time, medens det andet Hold ikke blev hydrolyseret. Som det fremgaar af Tabel 8 blev Indholdet af Aminosyre-N forøget med ca. 25 pCt. ved Hydrolysen.

TABEL 8

Indholdet af Amino-N med og uden Hydrolyse af Filtratet. Roetopensilage.

	Amino-N %
÷ Hydrolyse af Filtratet	0,119
+ Hydrolyse af Filtratet (1 Times Kogning med 5n HCl)	0,150

Det gælder om ved Hydrolysen at faa gjort samtlige Polypeptider titrerbare, men samtidig er det nødvendigt af Hensyn til den senere Neutralisering og Ammoniakafblæsning, at Opløsningen ikke bliver

for mørk, og at der ikke skal anvendes for store Væskemængder til at neutralisere Opløsningen.

Vi har derfor efter nogle orienterende Undersøgelser foretaget en Sammenligning mellem Hydrolyse med 5 n og 1 n Saltsyre i varierende Tidsrum. Forsøget er udført saaledes, at 120 g Roetopensilage + 1200 ml Eddikesyre-Acetatløsning er opvarmet paa kogende Vandbad i 1 Time og derefter afkølet, filtreret og udvasket. Filtratet + Vaskevandet er inddampet og fordelt paa 12 Analyser à 40 ml, svarende til 10 g Roetopensilage. Derefter er der blevet tilsat Saltsyre, saaledes at Koncentrationen i det ene Hold var 1 n, medens den i det andet Hold var 5 n, hvorefter Analyserne er blevet hydrolyseret ved svag Kogning med Tilbagesvaler i henholdsvis 1, 2 og 4 Timer. Resultatet fremgaar af Tabel 9.

TABEL 9.

Indholdet af Amino-N i Filtratet fra Renproteinfældningen efter Hydrolyse med 1n og 5n HCl. Roetopensilage.

Hydrolyse med HCl		Amino-N %	
Koncentration	Timer	Enkeltanalyser	Middel
1n	1	0,134 0,136	0,135
do.	2	0,136 0,139	0,138
do.	4	0,142 0,138	0,140
5n	1	0,142 0,139	0,141
do.	2	0,139 0,142	0,141
do.	4	0,141 0,141	0,141

Hydrolyse med 5 n HCl har aabenbart givet Maksimumsværdi efter kun 1 Times Kogning, hvorimod der skal koges i 4 Timer med 1 n HCl for at naa de samme Værdier. Vi har imidlertid valgt at *hydrolysere ved Kogning i 4 Timer med 1 n HCl*, idet man derved undgaar den stærke Mørkfarvning, som opstaar ved Hydrolyse med 5 n HCl, samtidig med at der senere i Analysens Gang kun skal anvendes en mindre Væskemængde til Neutralisering.

b. Fjernelse af Ammoniumsalte.

Efter Hydrolysen skal de tilstedeværende Ammoniumsalte fjernes, og hertil benyttes Folins Metode, der maa anses for at være mest skaansom overfor de øvrige Kvælstofforbindelser. Efter *Folins* Metode (5) gøres Opløsningen alkalisk, og Ammoniakken uddrives ved Gennemsugning af en stærk Luftstrøm, der derefter ledes igennem et Forlag med $n/8$ HCl, hvorefter Ammoniakmængden kan bestemmes ved Titring. Den saltsure Opløsning fra Hydrolysen neutraliseres med NaOH, idet der først afstumpes med en $10n$ Opløsning, og derefter tildryppes en $1n$ Opløsning indtil Omslag paa Metylrodt. Opløsningen skal nu gøres alkalisk, og hertil har vi benyttet fast Kaliumkarbonat for at undgaa en større Forøgelse af Væskemængden. Vi har foretaget nogle Forsøg til Bestemmelse af den Mængde Kaliumkarbonat, der skal tilsættes, og til Undersøgelse af hvor lang Tid, der skal suges Luft igennem for at faa drevet al Ammoniakken ud. Som Analysegrundlag er benyttet 10 g Lucernemel, idet Renproteinet først er udfældet og Filtratet derefter underkastet en Hydrolyse som beskrevet forud. Det hydrolyserede Filtrat er delt paa 10 Analyser, hver svarende til 1 g Lucernemel. Analyserne er neutraliserede med Natriumhydroxyd, og derefter er der tilsat varierende Mængder af Kaliumkarbonat. Med passende Mellemrum er Gennemsugningen af Luft blevet afbrudt, og der er blevet indsat nye Forlag, saaledes at man har kunnet følge Processens Forløb.

TABEL 10.

Ammoniakbestemmelsens Afhængighed af den tilsatte Mængde Kaliumkarbonat og Afblesningstiden. Lucernemel.

Analyse Nr.	Tilsat K_2CO_3 g	Ammoniakindhold svarende til et Forbrug af ml $n/14$ HCl efter Afblesning i			
		2 Timer	+ 1 Time	+ 1 Time	ialt
1	5	1,15	0,15	0	1,30
2	»	1,20	0,15	0	1,35
3	10	1,00	0,15	0,20	1,35
4	»	1,00	0,25	0,10	1,35
5	15	0,95	0,20	0,15	1,30
6	»	1,35	0	—	1,35
7	20	1,50	0	—	1,50
8	»	1,35	0,05	—	1,40
9	25	1,50	0	—	1,50
10	»	1,50	0	—	1,50

Det Apparat, der er anvendt, er indrettet saaledes, at det kan tage 6 Analyser ad Gangen, men da det ikke er muligt at lede nøjagtig den samme Luftstrøm gennem hver Ledning, vil der kunne opstaa nogle Variationer imellem Analyserne med Hensyn til den Tid, det tager for at blæse den samme Ammoniakmængde af.

Af Undersøgelserne fremgaar det, at man bør anvende 25 g K_2CO_3 med en Afblæsningstid paa 2—3 Timer, og dette har ogsaa ved vore øvrige Analyser vist sig at være tilstrækkeligt. I Almindelighed blæser vi Ammoniakken af uden at titrere den, men hvis det drejer sig om Analyser med et forventet stort Ammoniakindhold, bør man dog ved en Titrering sikre sig, at al Ammoniakken er blæst af.

Af Hensyn til den senere Fjernelse af Karbonater har vi undersøgt, om det ikke var muligt at blæse Ammoniakken af ved Hjælp af MgO. Undersøgelserne viste, at med en Anvendelse af 5 g MgO og en Gennemsugning af Luft i 3 Timer, blev Ammoniakken blæst af. Resultaterne var dog noget usikre, da Opslemningen bliver saa tyk, at det er vanskeligt at faa ledet en ensartet Luftstrøm igennem, og da Analyserne desuden har stærk Tilbøjelighed til at skumme over, samtidig med at der ved den senere Filtrering skal anvendes temmelig meget Vaskevand, har vi forladt denne Fremgangsmaade og benytter som angivet 25 g K_2CO_3 .

c. Fjernelse af Karbonater og Fosfater.

Efter at Ammoniakken er blæst af, skal til Slut de tilstedeværende Karbonater og Fosfater fjernes. Hovedmængden af Karbonatet fjernes ved at neutralisere med conc. Saltsyre indtil Omslag paa Metylrødt, derefter tilsættes 4 g Barumklorid og efter Afkøling gøres Opløsningen alkalisk ved Tilsætning af Natriumhydroxyd med Fenolftalein som Indikator. Efter 10 Minutters Henstand filtreres og udvaskes et Par Gange, hvorefter Formoltitreringen foretages.

Vi har undersøgt, om Aminosyreindholdet paavirkes ved at lade Analyserne henstaa i to Dage, naar der er neutraliseret til Omslag paa Metylrødt, og samtidig har vi foretaget en Sammenligning mellem Fjernelsen af Kulsyren med og uden Kogning, idet vi faar fjernet mere Kulsyre ved Udkogning, saaledes at der kun bliver en mindre Rest tilbage til Fældning med Barumhydroxyd.

Forsøget er udført paa det hydrolyserede Filtrat fra Renprotein-fældningen (Lucernemel) efter at Ammoniakken er blæst af. Alle fire

Hold er blevet neutraliseret med conc. HCl til Omslag paa Metylrødt, hvorefter Hold 2 er kogt i ca. 5 Min. Hold 3 og 4 har henstaaet i 2 Døgn, og derefter er Hold 4 ligeledes kogt i 5 Min. Den videre Fremgangsmaade har været ens for alle Hold, idet Resten af Karbonatet og eventuelle Fosfater er fjernet ved at tilsætte Bariumklorid og Natriumhydroxyd som beskrevet ovenfor, hvorefter Formolitreringen er foretaget.

TABEL 11.

Indholdet af Amino-N efter 2 Døgn's Henstand og med og uden Udkogning af Kulsyren. Lucernemel.

Hold Nr.	Formolitreringen udført	Kulsyren uddrevet ved	Amino-N %
1	straks	÷ Kogning	0,528
2	do.	+ Kogning	0,408
3	efter 2 Døgn	÷ Kogning	0,535
4	do.	+ Kogning	0,413

Det fremgaar af Forsøgene, at Kulsyren ikke bør fjernes ved Kogning, men blot ved Omrøring efter at Analyserne er gjort sure, idet Kogningen har givet væsentlig lavere Resultater end Omrøring. Aminosyreindholdet paavirkes ikke ved Henstand, naar Opløsningens pH ligger omkring Omslagspunktet for Metylrødt.

d. Beskrivelse af Analysemetoden.

Paa Grundlag af de omtalte Undersøgelser har vi herefter benyttet følgende Fremgangsmaade:

Filtratet + Vaskevandet fra Renproteinfældningen, der i Almindelighed fylder 3—400 ml, inddampes i en korthalset Kjeldahlkolbe til ca. 30 ml (Pimpsten) og bringes derefter kvantitativt over i en 250 ml Normalslibkolbe med lang Hals (N. S. 26). (Vi har maattet benytte Kjeldahlkolber til Inddampning, da vi ikke kunde fremskaffe rundbundede Normalslibkolber, og de fladbundede var tilbøjelige til at revne). Der tilsættes 10 ml ca. 5 n HCl (1 : 1), og Kolben forsynes med en Allihnskøler med Normalslib (20 cm Kappelængde) og anbringes i Stativet, hvorefter der hydrolyseres ved svag Kogning i 4 Timer. (Opstillingen er beregnet paa at kunne tage 6 Analyser ad Gangen). Efter Hydrolysen afkøles, og Saltsyren afstumpes med ca. 5 ml 10 n NaOH, og derefter tildryppes 1 n NaOH til Omslag paa Metylrødt, hvorefter Analysen henstaar til næste Dag.

Apparaturen til Fjernelse af Ammoniakken er ligeledes beregnet

til at tage 6 Analyser ad Gangen og bestaar af et Stativ med 6 store Reagensglas (180 × 40 mm), der lukkes med en Gummiprop, hvori Bobleanordningen er ført igennem. Luftgennemsgugningen foretages ved Hjælp af en Gevaupes Vandstraaleluftpumpe. Luften passerer først en Flaske med conc. Svovlsyre og derefter en Flaske med Natronlud, inden den suges igennem Reagensglassene.

Analysen bringes over i et af de store Reagensglas, og der tilsættes 1 n NaOH til Omslag paa Fenoltalein og derefter yderligere 25 g K_2CO_3 (II, Potaske) + lidt Oktylalkohol. Apparatet samles, og der suges Luft igennem i 3 Timer. Ved store Ammoniadmængder eller ringe Sugning kan det være nødvendigt at kontrollere, om al Ammoniakken er blæst af, hvilket kan ske ved at indskyde et Forlag med Saltsyre og ved Titrering sikre sig, at der ikke gaar mere Ammoniak over.

Efter Ammoniakafblæsningen bringes Analysen over i et 500 ml Bægerglas, og der tilsættes forsigtig ca. 25 ml conc. HCl indtil Omslag paa Metylrodt. Der omrøres godt og afkøles, hvorefter der tilsættes 4 g $BaCl_2$, og saa meget NaOH, at Opløsningen viser tydelig alkalisk Reaktion paa Lakmuspapir. (Opløsningen maa ikke gøres for alkalisk, da den i saa Fald trækker saa meget Kulsyre til, at Formoltitreringen giver usikre Resultater). Efter 10 Minutters Henstand filtreres gennem Foldefilter ned i et 400 ml Bægerglas, der udvaskes 2 Gange med kulsyrefrit Vand, hvorved Slutrumfanget bliver ca. 200 ml, og Analysen er nu klar til Formoltitreringen.

Bægerglasset anbringes paa Titreringsstativet, og efter at Elektroder og Omrører er bragt paa Plads neutraliseres med 0,1 n HCl til pH 7,0. Derefter tilsættes 25 ml Formalin (40 pCt. Handelsvare) fra Buretten, og der titreres med 0,1 n NaOH til pH 8,8. Blindværdien for Formalinet bestemmes ved at titrere 25 ml Formalin med 0,1 n NaOH til pH 8,8. Blindværdien maa kontrolleres med passende Mellemrum.

Indholdet af Amino-N beregnes efter

$$\frac{a \cdot n \cdot 14,01 \cdot 100}{b \cdot 1000} = \text{pCt. Aminosyrekvælstof}$$

hvor

a = ml NaOH forbrugt til Titreringen ÷ Blindværdien for Formalinet

n = Normaliteten af NaOH

b = g afvejat Stof

e. Analysemetodens Afprøvning ved Hjælp af rene Aminosyrer.

En Forudsætning for at kunne anvende den omtalte Analysemetode er, at de forskellige Aminosyrer kan taale denne Behandling uden at blive ødelagt. Vi har derfor underkastet en Del Aminosyrer Analysens Gang dels i ren Tilstand og dels efter Tilsætning af Lucernemel. I det første Forsøg (Tabel 12) er de afvejede Aminosyrer blevet opløst i 100 ml Eddikesyre-Acetatløsning og derefter behandlet som Filtratet fra Renproteinfældningen. I det andet Forsøg (Tabel 13) er Aminosyrerne blevet afvejede sammen med Lucernemelet og underkastet Renproteinfældningen samt den videre Behandling af Filtratet.

Som det fremgaar af Tabellerne har vi med ret stor Tilnærmelse

TABEL 12.

Analysemetodens Virkning overfor forskellige Aminosyrer i ren Tilstand.

Aminosyre	Amino-N		
	afvejet m.ækv.	fundet m.ækv.	fundet i % af afvejet
Glycin	1,665	1,725	103,6
	1,653	1,710	103,4
Alanin	1,121	1,128	100,6
	1,472	1,456	98,9
Norleucin	0,646	0,641	99,2
	0,762	0,746	97,8
Asparaginsyre	1,149	1,168	101,6
	1,255	1,262	100,6
Asparagin	0,523	0,521	99,6
	0,504	0,506	100,4
Glutaminsyre	1,035	1,009	97,5
	1,100	1,069	97,1
Cystin	1,080	0,964	89,3
	1,140	1,034	90,7
Taurin	1,617	1,660	102,7
	1,189	1,218	102,4
Histidin-mono-hydroklorid	0,807	0,825	102,2
	0,826	0,830	100,5
Arginin	0,759	0,676	89,1
	0,904	0,800	88,5

TABEL 13.

Analysemetodens Virkning overfor rene Aminosyrer i Blanding med Lucernemel.

	Amino-N		
	afvejet m.ækv.	fundet m.ækv.	fundet i % af afvejet
Lucernemel + Glycin	1,581 1,646	1,541 1,685	97,5 102,4
Lucernemel + Glutaminsyre	1,150 1,214	1,163 1,193	101,1 98,3
Lucernemel + Taurin	1,351 1,204	1,362 1,233	100,8 102,4

genfundet de tilsatte Mængder af de forskellige Aminosyrer baade i ren Tilstand og efter Tilsætning af Lucernemel. En Undtagelse herfra er dog Cystin og Arginin, hvor der har været et Tab paa ca. 10 pCt. Som omtalt under Formoltitreringen af de rene Aminosyrer kan Arginin ikke formoltreres direkte, men ved Behandlingen med Saltsyre er det blevet titrerbart, saaledes at vi har kunnet genfinde ca. 89 pCt. Videre Undersøgelser har ikke været mulige paa Grund af manglende Aminosyrer, men vi mener paa Grundlag af de her beskrevne Forsøg at kunne regne med, at de forskellige Aminosyrer ikke paavirkes i nogen væsentlig Grad af den anvendte Analysemetode.

Inden vi er gaaet over til at analysere forskellige Fodermidler, har vi med de resterende Aminosyrer foretaget en Undersøgelse af Titreringskurvernes Afhængighed af Fortynding og Salttilsætning. Som omtalt Side 59 er Titreringskurverne for de rene Aminosyrer bestemt ved at opløse 1—1,5 m. ækv. Aminosyrer i 50 ml kulsyrefrit Vand og derefter formoltrere Opløsningen. Ved Formoltitering af Filtratet fra Renproteinfældningen efter Analyseforskriften bliver Rumfanget af den Opløsning, der skal titreres ca. 200 ml, og Indholdet af Aminosyrer vil for Grovfodermidler ofte ligge omkring 0,5 m. ækv., desuden kommer Opløsningen til at indeholde temmelige mange Salte.

Vi har derfor med de tre resterende Aminosyrer, Glycin, Alanin og Asparaginsyre foretaget en Sammenligning ved Formoltitrering af:

- I. 1,5 m. ækv. Aminosyre i 50 ml Vand ÷ Salttilsætning
 II. 0,5 » » » 200 » ÷ »
 III. 0,5 » » » 200 » + »

Den Saltmængde, der er tilsat, svarer nøjagtig til det Saltindhold, der findes i en alm. Analyse efter Renproteinfældning, Hydrolyse m. m. Resultatet fremgaar af Tabel 14 og de efterfølgende Kurver.

TABEL 14.

Titreringskurvernes Afhængighed af Fortynding og Salttilsætning.

Aminosyre	Koncentration m.ækv./ml.	Salttilsætning	$\Delta pH/\Delta NaOH$ Max. ved pH	Afvejet Aminosyre m.ækv.	Fundet Aminosyre ved Titring til Vendepunkt		Fundet Aminosyre ved Titring til pH 8,80	
					m.ækv.	Afv. %	m.ækv.	Afv. %
Glycin	1,5/50	÷	8,37	1,519	1,507	÷ 0,8	1,509	÷ 0,7
do.	0,5/200	÷	8,62	0,504	0,498	÷ 1,2	0,491	÷ 2,5
do.	0,5/200	+	8,27	0,516	0,526	+ 1,9	0,544	+ 5,5
Alanin	1,5/50	÷	8,95	1,534	1,511	÷ 1,5	1,514	÷ 1,3
do.	0,5/200	÷	9,10	0,503	0,496	÷ 1,4	0,491	÷ 2,3
do.	0,5/200	+	8,96	0,503	0,506	+ 0,6	0,504	+ 0,2
Asparaginsyre	1,5/50	÷	8,90	1,501	1,474	÷ 1,8	1,469	÷ 2,1
do.	0,5/200	÷	9,10	0,498	0,484	÷ 2,8	0,457	÷ 8,1
do.	0,5/200	+	8,68	0,498	0,506	+ 1,6	0,514	+ 3,1

Fig. 14. Formoltitrering af Glycin. Varierende Koncentration og Saltindhold.

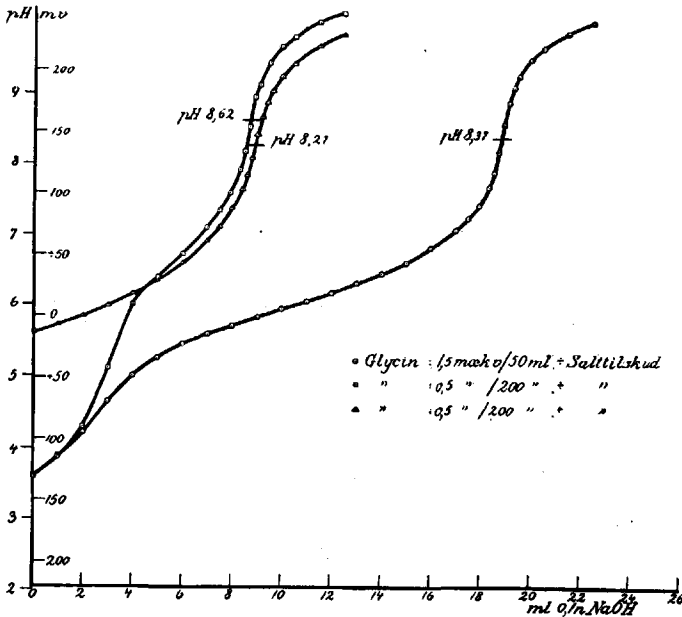


Fig. 15. Formtitrering af Alanin. Varierende Koncentration af Saltindhold.

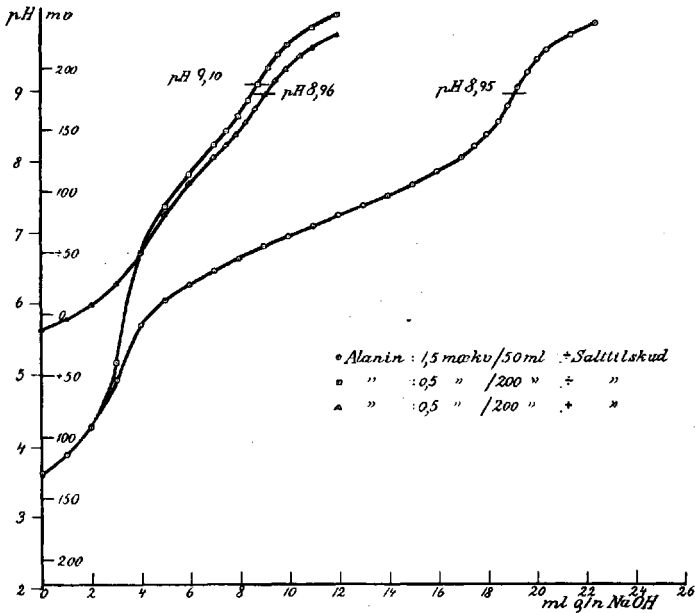
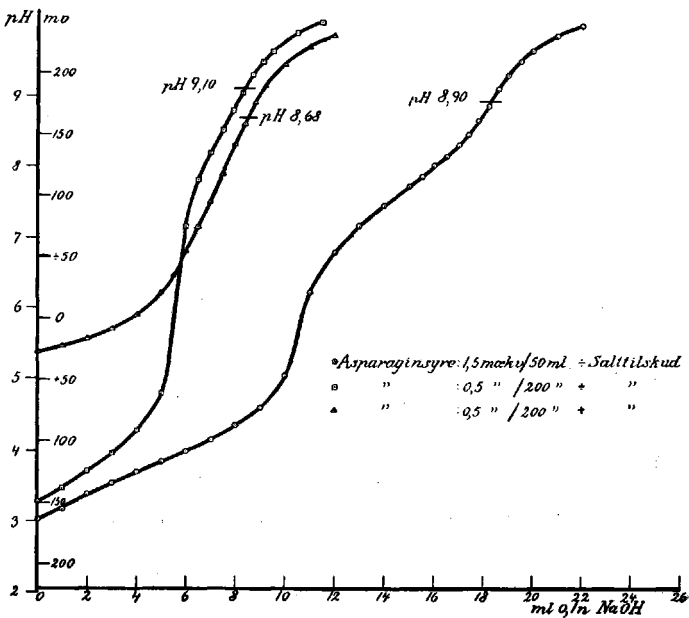


Fig. 16. Formtitrering af Asparaginsyre. Varierende Koncentration og Saltindhold.



Som det var at vente, ændres Kurverne saaledes, at Vendepunktet forskydes mere til den alkaliske Side ved en Formindskelse af Koncentrationen og en Forøgelse af Væskerumfanget, hvorimod Salttilsætningen til den svage Opløsning bevirker, at Vendepunktet atter forskydes mod den sure Side og saaledes nærmer sig det tidligere bestemte Vendepunkt gældende for en Opløsning af 1,5 m. ækv. Aminosyre i 50 ml Vand.

Da vi ikke har haft flere Aminosyrer til Undersøgelse, og da det ser ud til, at Fortyndingen og Salttilsætningen modvirker hinanden saaledes, at Vendepunktet for den tynde Opløsning med Saltindhold kommer til at ligge i Nærheden af det oprindelig fastlagte, bibeholder vi at titrere til 8,80, indtil yderligere Undersøgelser har vist, om der er nogen Grund til at foretage en mindre Ændring af det pH, hvortil Titreringen skal foregaa.

IV. Analyser af forskellige Fodermidler.

Vi har efter de her omtalte Undersøgelser benyttet den udarbejdede Analysemetode til Bestemmelse af det anvendelige Kvælstof i forskellige Fodermidler. Som anvendeligt Kvælstof regnes herefter Summen af Proteinkvælstof bestemt ved Varmekoagulation og Aminosyrekvælstof i det hydrolyserede Filtrat fra Proteinfældningen. Vi har samtidig bestemt Indholdet af Total-N og Stutzer-N, saaledes at vi kan foretage en Sammenligning mellem det anvendelige Kvælstof og Stutzerkvælstoffet, der hidtil har været betragtet som et Udtryk for den Kvælstofmængde, der kunde anvendes til dyrisk Syntese.

Runkelroer, Fodersukkerroer og Kaalroer stammer fra Landbohøjskolens Mark. Toppen er hugget af umiddelbart efter Optagningen og derefter analyseret, Roerne er vaskede og har ligget til Tørring en Dag, hvorefter de er analyserede. Revet Roetop er en Gennemsnitsprøve af Nedlægningsmaterialet til Ensileringsforsøgene paa Nøbøllegaard. Roetopensilagen er en Prøve fra Afdelingens Forsøgssilo paa Laboratoriets Grund. Ensileringen er udført med revet Roetop uden nogen Art af Tilsætningsmidler. Ved Prøvetagningen, der foregik ca. 8 Maaneder efter Nedlægningen, havde Ensilagen et tiltalende Udseende, pH laa omkring 4, og der var ingen Smørsyre. Grøn Lucerne stammer fra en Udlægsmark paa Forsøgslaboratoriet, Prøven er taget den 14. Oktober. De øvrige Prøver er alm. Handelsvarer.

TABEL 15.

Indholdet af anvendeligt Kvælstof i forskellige Fodermidler.

	Tørstof %	Total-N %	Stutzer-N %	Prot.-N efter Varmekoagulation %	Amino-N %	Anvendeligt Kvælstof: Prot.-N % + Amino-N %	Stutzer-N i % af Total-N	Anvendeligt Kvælstof: Prot.-N + Amino-N i % af Total-N
Runkelroer	12,94	0,179	0,094	0,069	0,054	0,123	52,5	68,7
Fodersukkerroer ..	16,60	0,188	0,098	0,075	0,056	0,131	52,1	69,7
Kaalroer	11,18	0,224	0,121	0,100	0,064	0,164	54,0	73,2
Sukkerroeaffald ...	0,78	0,129	0,123	0,116	0,013	0,126	95,3	100,0
Runkelroetop	9,70	0,346	0,277	0,271	0,031	0,302	80,1	87,3
Fodersukkerroetop	10,30	0,380	0,295	0,268	0,039	0,307	77,6	80,8
Kaalroetop	12,42	0,532	0,431	0,385	0,064	0,449	81,0	84,4
Revet Roetop til En- silering	16,75	0,384	0,274	0,257	0,053	0,310	71,4	80,7
Roetopensilage	—	0,385	0,181	0,156	0,150	0,306	47,0	79,5
Kartofler	20,98	0,367	0,242	0,195	0,090	0,285	65,9	77,7
Grøn Lucerne	16,39	0,896	0,753	0,685	0,122	0,807	84,0	90,1
Lucernemel	89,18	3,07	2,55	2,19	0,64	2,83	83,1	92,2
Hvede	84,96	1,31	1,27	1,09*	0,12	1,21	96,9	92,4
Rug	86,74	1,27	1,16	1,02*	0,11	1,13	91,3	89,0
Byg	84,93	1,30	1,24	1,12	0,13	1,25	95,4	96,9
Havre	85,69	1,55	1,43	1,30	0,15	1,45	92,3	93,5
Blodmel	90,07	13,85	13,50	13,13	0,43	13,56	97,5	97,9

Selvom de her anførte Analyser ikke kan anses for generelle, idet Vækst- og Opbevaringsforholdene øver stor Indflydelse paa Kvælstof-fordelingen, og disse Analyser kun refererer sig til begrænsede Lokali-teter, kan man dog udlede visse Retningslinier af dem.

Forskellen mellem anvendeligt Kvælstof og Stutzerkvælstof er for Roernes Vedkommende ret betydelig, idet vi har fundet 31—36 pCt. mere anvendeligt Kvælstof end Stutzer-Kvælstof. Selvom det absolutte Kvælstofindhold er lavt i Roerne, er det dog en Forskel, der med et dagligt Roefoder paa 40 kg svarer til, at der i Virkeligheden er 73—108 g Protein mere til Raadighed for Dyret, end det vi beregner, naar vi benytter Tallene fra Stutzeranalysen.

* Fældet med Trikloredikesyre.

Analyserne af de tilsvarende Roetoppe viser som bl. a. angivet af *Axel Pedersen* (12), at en betydelig større Del af Kvælstoffet er til Stede som Proteinkvælstof i Toppen end i Roen. Forskellen mellem anvendeligt Kvælstof og Stutzerkvælstof er kun ringe i den frisk af-skaarne Top, men Analysen af revet Roetop til Ensilering tyder paa, at Vejringen og Forsendelsen af Analyseprøven har bevirket en Nedbrydning af Proteinstofferne, idet vi finder en større Difference mellem anvendeligt Kvælstof og Stutzerkvælstof for denne Prøve end for den friske Top.

Da Nedlægningsmaterialet til Roetopensilagen ikke er analyseret efter denne Fremgangsmaade, kan vi ikke foretage nogen Sammenligning mellem dette og Ensilagen, men Analyserne af Roetopensilagen viser en overordentlig stor Forskel mellem anvendeligt Kvælstof og Stutzerkvælstof, idet vi finder ikke mindre end 69 pCt. mere anvendeligt Kvælstof end Stutzerkvælstof, hvilket for 10 kg Ensilage af denne S sammensætning vilde svare til 78 g Protein mere til Raadighed end beregnet efter Stutzeranalysen.

Med Undtagelse af en enkelt Lucerneprøve fra en Udlægsmark, har vi ikke haft Lejlighed til at analysere Græsmarksafgrøder, men det er Meningen, naar Forholdene tillader det at foretage en systematisk Undersøgelse af Græsmarksafgrøder, Rodfrugter og Ensilageprøver. Som det fremgaar af disse foreløbige Undersøgelser, kan man især for Ensilageprøvernes Vedkommende vente at finde store Forskelle imellem anvendeligt Kvælstof og Stutzerkvælstof.

Resumé.

- I. En Bestemmelse af Stutzerkvælstoffet i Fodermidler, der indeholder mange Polypeptider og Aminosyrer, er et daarligt Udtryk for den anvendelige Kvælstofmængde, idet Polypeptider og Aminosyrer, der kan udnyttes af Dyrene, kun i mindre Grad indgaar i Stutzerkvælstoffet.
- II. Der er udarbejdet en Metode, hvorefter Proteinkvælstoffet fældes ved Varmekoagulation ved pH ca. 4,8, og i Filtratet herfra bestemmes Indholdet af Aminosyrer. Filtratet hydrolyseres med Salt-syre, hvorved de tilstedeværende Polypeptider nedbrydes til Aminosyrer. Efter Fjernelse af Ammoniumsalte samt Karbonater og

Fosfater bestemmes Indholdet af Aminosyrer ved elektrometrisk Formoltitrering med Glaselektrode.

- III. Metoden er bragt til Anvendelse overfor forskellige Fodermidler, og der er for visse Fodermidler fundet ret betydelige Forskelle imellem den anvendelige Kvælstofmængde, bestemt efter den her udarbejdede Metode, og den Kvælstofmængde man i Almindelighed regner for anvendelig bestemt efter Stutzermetoden. Saaledes har vi for Roernes Vedkommende fundet 31—36 pCt. mere anvendeligt Kvælstof end Stutzerkvælstof, og i en Ensilageprøve er Forskellen gaaet helt op til 69 pCt.
-