



23. APRIL

NR. 311

### Sammenligning mellem in vivo protein fordøjelighed målt på rotter med to enzymatiske in vitro metoder

Af Birthe Pedersen, Robert Djurtoft, Bjørn O. Eggum og Ingeborg Jacobsen  
Afdelingen for biokemi og ernæring, D.T.H.  
Afdelingen for dyrefysiologi, biokemi og analytisk kemi, S.H.

Der er udført en sammenlignende undersøgelse af proteinets sande fordøjelighed (SF) målt på rotter med in vitro fordøjelighed målt ved hjælp af to enzymatiske metoder. Der er ialt undersøgt 38 fodermidler. For den ene metode, 3-Enzymmetoden, der hovedsagelig egner sig til bestemmelse i vegetabiliske produkter, er der mellem in vivo og in vitro resultaterne fundet en korrelationskoefficient på 0.92 med en standardafvigelse på 2%. For den anden metode, 4-Enzymmetoden, der har et bredere anvendelsesområde, er der fundet en korrelationskoefficient på 0.93 med en standardafvigelse på 2% for vegetabiliske prøver og på 3% for animalske prøver og blandinger. Begge metoder giver efter en standardisering reproducerbare resultater med en standardafvigelse for en in vitro bestemmelse på 0.7%.

#### Indledning

Der har i en årrække været et udtalt ønske om at finde en in vitro metode til måling af proteinstoffernes fordøjelighed. Foruden at måleresultaterne skulle være sammenlignelige med in vivo værdier, skulle metoden endvidere være billig, hurtig og reproducerbar.

Først i de allersene år er der fremkommet metoder (Hsu *et al.* 1977, Satterlee *et al.* 1979), der tilsyneladende kan opfylde de anførte krav. Disse metoder er henholdsvis en 3- og en 4-Enzymmetode. 4-Enzymmetoden adskiller sig fra 3-Enzymmetoden ved at der kun benyttes et enzympræparat mere for at udvide anvendelsesområdet.

På grund af de meget lovende resultater opnået med de to metoder ved andre institutioner ville vi undersøge om in vitro resultater opnået med de anførte metoder var sammenlignelige med in vivo

resultater opnået i forsøg med rotter. De enzymatiske målinger er foretaget på afdelingen for biokemi og ernæring ved D.T.H., medens in vivo tallene stammer fra rotteforsøg udført ved afdelingen for dyrefysiologi, biokemi og analytisk kemi ved S.H.

#### Materiale og metoder

Princippet i metoderne er, at en prøve inkuberes med en blanding af proteolytiske enzymer; disse spalter proteinets peptidbindinger, hvorved der frigøres  $H^+$ , der vil sænke pH i prøvesuspensionen. Jo større pH-fald jo større fordøjelighed.

I 3-Enzymmetoden anvendes en enzymopløsning bestående af trypsin, chymotrypsin og et tarmpeptidasepræparat. pH indstilles til 8.0 i prøvesuspensionen, enzymopløsningen tilsættes og efter præcis 10 minutter måles pH. Denne størrelse anvendes til beregning af fordøjeligheden ved

hjælp af en ligning:  $SF = a + b \times pH$ , der er opstillet ved hjælp af prøver med kendt SF bestemt ved rotteforsøg.

4-Enzymmetoden startes på samme måde som 3-Enzymmetoden, men efter de første 10 minutter tilsættes en ny enzymopløsning indeholdende en mikrobiel protease. Efter yderligere 10 minutters inkubering måles pH, der anvendes til beregning af SF som beskrevet ovenfor.

Metoderne adskiller sig fra de tidligere enzymatiske in vitro metoder bl.a. ved en stor enzymkoncentration og en meget kort inkuberingstid. Begge metoder er særdeles hurtige og simple. Kemikalieudgiften for en analyse er omkring 1 kr. og behovet for laboratorieudstyr minimalt. Ved opstilling af simpelt udstyr beregnet på serieanalyser vil en laborant kunne udføre 20-30 bestemmelser pr. dag.

### Resultater

En række forskellige prøver er analyseret, og in vitro protein for fordøjelighed er sammenlignet med SF bestemt in vivo. Resultaterne fremgår af tabel 1. Begge metoder giver, hvis analyserne udføres på en standardiseret måde, reproducerbare resultater. Standardafvigelsen på en bestemmelse er 0.7% og på en dobbeltbestemmelse 0.5%.

3-Enzymmetoden er hovedsagelig egnet til bestemmelse i vegetabiliske prøver, og der er fundet en korrelationskoefficient mellem in vivo og in vitro resultaterne på 0.92 med en standardafvigelse på 2% på in vitro estimeret i forhold til in vivo resultatet. 4-Enzymmetoden synes at have et større anvendelsesområde, og der er fundet en korrelationskoefficient på 0.93 med in vivo værdier. For kaseiner og vegetabiliske prøver er standardafvigelsen på estimeret 2%, medens standardafvigelsen for blandinger på estimeret er 3%.

Metoderne synes altså at give rimelige estimater for en lang række produkter, men for visse rene animalske prøver (skummetmælkspulver), var det ikke muligt at opnå rimelige estimater. Ved undersøgelsen er der også vist en lineær sammenhæng mellem pH og in vitro fordøjelighed. Endvidere er en blandings fordøjelighed fundet at være bestemt af de enkelte komponenter

fordøjelighed, som det gælder in vivo. Med henblik på bestemmelse i byg, har metoden vist sig at være følsom overfor tanniner, der i byg nedsætter fordøjeligheden.

Tabel 1. Sammenligning mellem proteinfordøjelighed bestemt in vivo og in vitro.

Prøve	Rotteforsøg SF (%)	4-Enzymmetoden In vitro (%)	3-Enzymmetoden In vitro (%)
<i>Kaseiner</i>			
Na-kaseinat	98.5	95.3	97.4
Kasein (E)	99.2	98.1	101.6
Kasein NBC	99.2	99.1	-
Kasein + meth.	100.1	103.9	-
<i>Soyamel</i>			
Danprotax H	96.0	96.7	95.4
Danpro H	94.8	96.2	93.2
Supro 620	94.7	97.6	96.8
Supro 710	98.2	93.4	92.4
Stapro 3200	96.8	94.0	94.2
<i>Byg</i>			
Hiproly	84.4	84.6	87.8
Carlsberg Grits	88.3	86.9	-
Carlsberg Hel byg	87.4	87.1	-
Mona	87.7	90.1	86.9
Simba	87.1	87.1	86.1
Eva	87.5	88.6	87.0
71/65	85.7	87.5	87.3
B <sub>1</sub> -ubeh.	87.6	88.0	87.2
B <sub>1</sub> -beh.	84.9	89.9	88.6
Emir	86.2	84.3	84.3
Salka	88.2	87.0	-
<i>Havre</i>			
Havregryn	89.7	90.8	88.5
Havreprotein-koncentrat	94.1	92.3	91.9
<i>Blandinger</i>			
Salka-byg + kasein + meth.			
90	10	89.4	89.3
70	30	91.8	91.9
50	50	94.2	95.3
30	70	96.5	98.9
10	90	98.9	101.4
Salka 50% + andet 50%			
50% AFS Poly 76	81.8	81.9	83.8
50% AFS Poly 78	77.4	80.8	81.7
50% tørret blod	76.1	82.3	81.8

Emir-byg + kødbenmel				
95	5	85.8	81.0	81.4
90	10	83.8	80.8	82.3
85	15	82.3	81.8	83.5
80	20	82.1	83.4	83.0
75	25	80.8	80.4	83.5
70	30	80.2	82.1	84.5
<i>Æg</i>				
Ægpulver		99.0	94.4	-
Tørret æggehvite		102.1	97.1	-

### Diskussion

De to in vitro metoder synes at give tilfredsstillende resultater for proteinets fordøjelighed i adskillige produkter. De vil måske med held også kunne anvendes ved kvalitetskontrol og ved rutinemæssige bestemmelser af proteinfordøjeligheden. De tidsmæssige og økonomiske fordele er betydelige. Undersøgelserne vil blive fortsat, idet bl.a. en række andre aktuelle foderstoffer vil blive analyseret.

### Referencer

- Hsu, H. W., Vavak, D. L., Satterlee, L. D. & Miller, G. A. (1977). *J. Food Sci.* 42, 1269.  
 Satterlee, L. D., Marshall, H. F. & Tennyson, J. M. (1979). *J. A. O. C. S.* 56, 103.

