

**ARBEIDSBESKRIVELSE**  
**Institutt for husdyr - og akvakulturvitenskap, NMBU**

---

**Metodenavn: Bufferløselig protein (sCP)**

BIOVIT-nr.: Arb1171

---

**1. Innledning**

Bufferløslig råprotein (ammonium nitrogen) er en enkel og rask måte å bestemme innhold av lettløselig nedbrytbar protein på. Ekstraksjonen av protein kan påvirkes av flere faktorer: Type buffer, pH, temperatur, ekstraksjonslengde, separasjonslengde og N-analysen. Metoden som denne arbeidsbeskrivelsen omhandler, er anbefalt av NorFor (datert 2006.11.15).

**2. Analyseprinsipp, hensikt**

Under ekstraksjonen er det viktig å sikre en stabil pH og temperatur. Dette gjøres ved og bruke en borat-fosfat buffer med pH= 6,75 og å holde prøver med buffer på 39°C under inkubasjonen (1t). Dvs. at man prøver å etterligne de fysiologiske betingelsene som naturlig finnes i et vommiljø. Etter ekstraksjonen analyseres prøvene på vanlig måte ved Kjeldahl-N- metoden.

For siloprøver må innholdet av ammonium-N bestemmes som en korreksjon av tapt Råprotein (som ammonium-N) under tørking. Dette tapet er satt til 60 % ammonium.

**3. Anbefalt utstyr**

50ml sentrifugerør eller engangsrør  
Trakt  
Filter (sort)  
Vannbad  
Sentrifuge  
Kjeldahl-utstyr fra Tecator

**4. Reagenser**

Destillert eller ionebytta vann

Monosodium fosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ ) 12,20g/l

Sodium tetraborat ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$ ) 8,91g/l

Borat-fosfat buffer:

Vei inn 8,91 g  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  i 950ml destillert vann (løser seg sakte). Når det er løst, tilsett 12,20 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ . Fyll opp med dest. vann til 1 l. Juster pH til 6,7-6,8.

Bufferløsningen lages ny rett før bruk.

**5. Prøvemateriale**

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet NorFor 13.03.05	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 01.02.07	Revisjon 06.2018	Erstatter 01.02.07	Dokumentnavn ettusenett hundre ogsyttien 00/00	Side 1-2

Det trenges 1,5g tørt, malt (1mm) prøvemateriale.

## 6. Arbeidsbeskrivelse

1. Vei inn ca 1,5g ± 1 mg (eller 1,2 g så blir ikke rørene så fulle) prøve i et sentrifuge rør
2. Tilsett 50 ± 0,5ml(eller 40ml hvis 1,2g prøve) borat-fosfat buffer (forvarmet til 39 °C )  
Ta med en blank med bare borat-phosphate buffer på hver serie.
3. Sett på kork og rist prøvene godt.
4. Sett prøvene på vannbad ved 39 ± 0,5 °C til inkubering i 1time ± 5min. Rist prøvene hver 15minut.
5. Sentrifuger prøvene ved 3000 x g i 10min.
6. Filtrer supernatanten opp i et nytt rør
7. Pipeter 20 ± 0,2 ml av løsningen opp i et Kjeldahl-rør  
Tilsett 2 kjeltabs og 15 ml svovelsyre, sett på parafilm på rørene og la blokka stå natten over. Skal settes på kald blokk, bruk programmet NMBU IHA RAMP på blokka.  
Herfra analyseres prøven som en vanlig Kjeldahl-N prøve

## 7. Beregning av sCP innhold i prøven

$$\frac{\text{g/kg N (fra kjeltec)}}{20} * 6,25 * 40$$

Hvor:

40 = volum (ml) tilsatt buffer

20 =volum (ml) ekstrakt pipetert over i Kjeldahl rør

Eventuelt kan resultat oppgis som andel bufferløselig protein av total råprotein:

$$\frac{\text{sCP g/kg}}{\text{CP g/kg}} \times 1000 = \text{fraksjon sCP av total CP (g/kg)}$$

CP = crude protein og fås ved å multiplisere Kjeldahl-N verdien med 6,25

BIOVIT/NMBU						ARB
Utarbeidet NorFor 13.03.05	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 01.02.07	Revisjon 06.2018	Erstatter 01.02.07	Dokumentnavn ettusenett hundre ogsyttien 00/00	Side 2-2