

FISKERIDIREKTORATETS SKRIFTER
SERIE TEKNOLOGISKE UNDERSØKELSER
VOL. IV NO 12

*Reports on Technological Research concerning
Norwegian Fish Industry*

VITAMINER I NORSK FISK IV

VITAMIN B₆ OG BIOTIN I FORSKJELLIGE
ORGANER FRA TORSKEFISKER (*Gadidae*) FANGET
LANGS NORSKEKYSTEN

AV

OLAF R. BRÆKKAN OG GJERMUND BOGE

*Government Vitamin Laboratory
Norwegian Fisheries Research Institute
Bergen—Norway*

Summary in English

FISKERIDIREKTØREN

Director of Fisheries

BERGEN 1965

A.S JOHN GRIEGS BOKTRYKKERI, BERGEN

INNLEDNING

I en tidligere publikasjon i denne serie er meddelt resultatene for undersøkelser over B-vitaminene niacin, riboflavin, pantotensyre og vitamin B₁₂ i forskjellige organer fra torskefisker (BRÆKKAN 1958). Samtidig ble tidligere undersøkelser over vitaminer i torskefisker fanget langs Norskekysten referert og drøftet. Det foreliggende arbeide er en videreføring av disse undersøkelser til å omfatte fordelingen av vitamin B₆ og biotin på de forskjellige organer hos endel torskefisker.

Vi kjenner idag vitamin B₆'s kjemiske oppbygning og forholdsvis gode analysemetoder er utviklet. I litteraturen er meddelt en rekke undersøkelser fra flere land over forekomsten av dette vitamin i næringsmidler. Norske undersøkelser er begrenset til to arbeider. LUNDE & KRINGSTAD (1938) benyttet rottedermatitt-metoden og undersøkte vitamin B₆ i fisk og fiskehermetikk. BRÆKKAN & BOGE (1960) gjennomførte en meget omfattende undersøkelse over vitamin B₆ i norsk fisk og fiskevarer. De fant at disse næringsmidler var meget gode kilder for dette vitamin. Hermetisering ga et visst tap, men ikke mere enn at også hermetiske fiskevarer kan klassifiseres som meget gode kilder for vitamin B₆.

I de senere år er biotin-innholdet i næringsmidler blitt undersøkt i flere land. Bare en norsk undersøkelse foreligger i litteraturen. BRÆKKAN & BOGE (1960b) fant at fisk og fiskeprodukter er meget gode kilder for biotin. I særdeleshet er torskelever, hermetiske produkter av torskelever og torskerogn meget rike kilder. Hermetisering synes ikke å føre til tap av betydning.

BRÆKKAN & BOGE (1962a, 1962b) undersøkte også vitamin B₆ og biotin i rogn fra torsk i forhold til forplantningscyklus. De fant at vitamin B₆ viste en stigning i løpet av den første fase av ovariets modning.

Det foreliggende arbeide meddeler resultatene fra en undersøkelse over forekomsten av vitamin B₆ og biotin i forskjellige organer fra torskefiskene: torsk (*Gadus morrhua*), sei (*Gadus virens*), lange (*Molva molva*) og brosme (*Brosmius brosme*).

METODER

Prøvene ble samlet av så fersk fisk som mulig. De ble i alminnelighet opparbeidet ved maling i kjøttkvern. Hvor små stoffmengder forelå, ble prøven homogenisert i morter eller Potter-Elvehjem homogenisator. Analysene ble dels foretatt på de ferske prøver, dels etter lagring i tett lukkede glass ved -15°C .

Vitamin B₆ ble bestemt mikrobiologisk med *Saccharomyces carlsbergensis* (ATCC 9080). I store trekk ble ATKIN *et. al.*'s (1943) metode benyttet. Forsøksvolumet ble imidlertid redusert til 5 ml i prøverør av størrelse 16×160 mm. Den opprinnelige anbefaling var 10 ml medium og prøverør av størrelse 25×200 mm. Prøvene ble ekstrahert med fortynt svovelsyre. 3,0 g prøve ble tilsatt 5,5 ml 2N H_2SO_4 og 195 ml vann. (Sluttkonsentrasjon 0.055N H_2SO_4). Blandingen ble autoklavert i 4 timer ved 120°C og avkjølt. pH ble justert til 5.2 med NaOH, blandingen fortynt til volum i målekolbe og filtrert. En passe alikvot av filtratet ble tatt ut og fortynt til passe sluttkonsentrasjon for den mikrobiologiske bestemmelse (ca. $0.002 \mu\text{g}$ vitamin B₆ pr. ml). Etter inokulering ble inkubert i 18 timer under rysting i luftinkubator ved 30°C . Veksten ble stanset ved steaming i 5 min., derpå målt i Beckman spektrofotometer modell B ved $660 m\mu$ mot podet blank.

Biotin ble bestemt mikrobiologisk med *Lactobacillus plantarum* (ATCC 8014) i store trekk etter WRIGHT & SKEGGS (1944). Ekstraksjonen ble utført med svovelsyre. Til 3.0 g homogenisert prøve ble tilsatt 25 ml 3N H_2SO_4 . Blandingen ble autoklavert 3 timer ved 120°C , avkjølet og tilsatt 2 ml 2.5 M natriumacetatopløsning. pH ble så justert til 4.5 med NaOH, og blandingen fortynt til volum i målekolbe med vann. Hvis den første del av filtratet var uklart ble det kastet, mens den påfølgende klare fraksjon ble beholdt. En passe alikvot ble tatt, pH innstilt til 6.8 og oppløsningen fortynt til en konsentrasjon av ca. $0.08 m\mu\text{g}$ biotin pr. ml. Forsøksvolumet var 10 ml. Etter sterilisering og inokulering ble glassene inkubert i vannbad i 20 timer ved 30°C . Veksten ble stanset ved steaming i 5 min. og derpå målt turbidimetrisk i Beckman Spektrofotometer modell B ved $660 m\mu$ mot podet blank.

Protein ble bestemt ved beregning som $\text{N} \times 6.25$. Nitrogen ble analysert etter vanlig makro-Kjeldahl.

Alle analyser ble utført med paralleller og de mikrobiologiske bestemmelser bekreftet i gjentatte forsøk.

RESULTATER OG DISKUSJON

Undersøkelsene omfattet bestemmelser av vitamin B₆ og biotin i forskjellige organer fra fire arter av torskfisker. Resultatene er oppsummert for hver art i tabellene 1—4. Denne oppstilling ble funnet mest praktisk og oversiktlig, selv om resultatene i det følgende gjennomgås og diskuteres for hvert vitamin for seg.

Tabell 1. Vitamin B₆ og biotin i forskjellige organer fra torsk (*Gadus morrhua*).
Table 1. The vitamin B₆ and biotin contents of different organs from cod (*Gadus morrhua*).

Prøve av <i>Sample of</i>	Protein (N × 6.25)	Vitamin B ₆		Biotin	
		µg/g organ	µg/g protein	µg/g organ	µg/g protein
Kjøtt (<i>Meat</i>)	18.0	2.34	13.0	0.018	0.10
Lever (<i>Liver</i>)	10.5	3.23	30.7	0.625	5.95
Rogn (<i>Roe</i>)	20.4	*	—	0.190	0.93
Melke (<i>Milt</i>)	12.5	*	—	0.065	0.52
Magesekk (<i>Stomach</i>)	12.5	1.33	10.6	0.112	0.89
Pylorus (<i>Pyloric caeca</i>)	16.0	1.65	10.3	0.084	0.51
Tarmer (<i>Intestines</i>)	16.5	1.00	6.1	0.089	0.54
Milt (<i>Spleen</i>)	—	0.42	—	0.029	—
Nyrer (<i>Kidneys</i>):					
Foran (<i>Anterior</i>)	—	1.88	—	0.081	—
Bak (<i>Posterior</i>)	—	6.62	—	0.233	—
Hjerte (<i>Heart</i>)	—	3.05	—	0.200	—
Gjeller (<i>Gills</i>)	—	1.27	—	0.030	—

* Se tekst. (*See text*).

Tabell 2. Vitamin B₆ og biotin i forskjellige organer fra sei (*Gadus virens*).
Table 2. The vitamin B₆ and biotin contents of different organs from coalfish (*Gadus virens*).

Prøve av <i>Sample of</i>	Protein (N × 6.25)	Vitamin B ₆		Biotin	
		µg/g organ	µg/g protein	µg/g organ	µg/g protein
Kjøtt (<i>Meat</i>)	18.5	2.89	15.6	0.061*	0.329
Lever (<i>Liver</i>)	7.5	2.10	31.3	0.318	4.25
Magesekk (<i>Stomach</i>)	13.0	1.24	9.6	0.115	0.888
Pylorus (<i>Pyloric caeca</i>)	12.5	2.13	17.1	0.151	1.21
Tarmer (<i>Intestines</i>)	13.5	1.30	9.7	0.115	0.855
Milt (<i>Spleen</i>)	—	0.22	—	0.033	—
Hjerte (<i>Heart</i>)	—	3.61	—	0.195	—
Gjeller (<i>Gills</i>)	—	0.75	—	0.038	—

* Se tekst (*See text*).

Tabell 3. Vitamin B₆ og biotin i forskjellige organer fra lange (*Molva molva*).
 Table 3. Vitamin B₆ and biotin in different organs from ling (*Molva molva*)

Prøve av <i>Sample of</i>	Protein (N × 6.25)	Vitamin B ₆		Biotin	
		µg/g organ	µg/g protein	µg/g organ	µg/g protein
Kjøtt (<i>Meat</i>)	19.1	2.21	11.6	0.010	0.052
Lever (<i>Liver</i>)	5.5	2.77	50.5	0.65	12.8
Rogn (<i>Roe</i>)*	10.5	0.081	0.77	0.087	0.825
Melke (<i>Milt</i>)*	11.0	0.27	2.45	0.066	0.600
Magesekk (<i>Stomach</i>)	13.0	0.97	7.45	0.098	0.751
Pylorus (<i>Pyloric caeca</i>)	12.7	1.22	9.55	0.096	0.755
Tarmer (<i>Intestines</i>)	16.0	0.47	—	0.060	0.375
Milt (<i>Spleen</i>)	—	0.22	—	0.039	—
Nyrer (<i>Kidneys</i>):					
Foran (<i>Anterior</i>)	—	0.48	—	0.026	—
Bak (<i>Posterior</i>)	—	3.75	—	0.231	—
Hjerte (<i>Heart</i>)	—	2.45	—	0.173	—
Gjeller (<i>Gills</i>)	— ^{*)}	0.27	—	0.049	—

* Umoden (*Unripe*).

Tabell 4. Vitamin B₆ og biotin i forskjellige organer fra brosme (*Brosmius brosme*).
 Table 4. Vitamin B₆ and biotin in different organs from torsk (*Brosmius brosme*)

Prøve av <i>Sample of</i>	Protein (N × 6.25)	Vitamin B ₆		Biotin	
		µg/g organ	µg/g protein	µg/g organ	µg/g protein
Kjøtt (<i>Meat</i>)	19.5	2.74	14.0	0.012	0.062
Lever (<i>Liver</i>)	6.0	4.3	71.7	0.50	8.33
Rogn (<i>Roe</i>)*	12.5	0.061	0.49	0.060	0.48
Melke (<i>Milt</i>)*	12.0	0.82	6.82	0.080	0.666
Magesekk (<i>Stomach</i>)	15.0	1.19	7.95	0.104	0.690
Pylorus (<i>Pyloric caeca</i>)	15.3	1.55	10.1	0.116	0.760
Tarmer (<i>Intestines</i>)	14.9	0.87	5.83	0.091	0.610
Milt (<i>Spleen</i>)	—	0.62	—	0.042	—
Hjerte (<i>Heart</i>)	—	3.14	—	0.35	—
Gjeller (<i>Gills</i>)	—	1.01	—	0.070	—

*Umoden (*Unripe*).

Torsk (*Gadus morrhua*) ble undersøkt i to serier. Den første omfattet 27 fisk av vekt 0.28—1.05 kg, gj.sn. 0.65 kg, mens den annen omfattet 8 fisk av vekt 1.88—3.38 kg, gj.sn. 2.53. Det ble ikke funnet forskjeller av betydning for verdiene i noen organ i disse serier, og resultatene ble slått sammen og gj.sn. verdier oppgitt i tabell 1. Ut fra erfaringene fra torsk ble undersøkelsen av de andre arter begrenset til en representativ

serie fra hver art. Sei (*Gadus virens*) omfattet 10 fisk av vekt 0.36—0.46 kg. Lange (*Molva molva*) omfattet 7 fisk av vekt 3.10—6.10 kg, gj.sn. 4.79 kg. Brosme (*Brosmius brosme*) omfattet 7 fisk av vekt 2.18—3.10 kg, gj.sn. 2.73 kg.

I orienterende undersøkelser hos en rekke andre arter var funnet praktisk talt like verdier for vitamin B₆ i lys og mørk muskel, mens biotin viste betydelig høyere verdier i mørk muskel. Det ble derfor i tillegg på en egen serie foretatt bestemmelser av vitamin B₆ og biotin for å fastslå fordelingen i torskefisker. Lys og mørk muskel ble samlet fra et passende antall fisk av hver art, idet «rene» prøver ble skåret ut med skalpel. Dette skulle gi gode prøver for en pålitelig sammelnende undersøkelse. Resultatene er oppsummert i tabell 5.

Vitamin B₆.

Den mikrobiologiske bestemmelse av vitamin B₆ med *Saccharomyces carlsbergensis* måler den samlede aktivitet av de tre aktive former, nemlig pyridoxin, pyridoxal og pyridoxamin. (RABINOWITCH & SNELL 1948).

Vitamin B₆-innholdet i muskel var av samme størrelsesorden i alle

Tabell 5. Fordelingen av vitamin B₆ og biotin i lys og mørk muskel hos endel torskefisker.
Table 5. The distribution of vitamin B₆ and biotin in the white and red muscle in some fishes.

Prøve av Sample of	Protein (N × 6.25)	Vitamin B ₆		Biotin	
		µg/g organ	µg/g protein	µg/g organ	µg/g protein
Torsk (<i>Cod</i>) (<i>Gadus morrhua</i>)					
Lys muskel (<i>White muscle</i>)	18.6	2.88	15.5	0.009	0.048
Mørk muskel (<i>Red muscle</i>)	17.9	3.07	17.2	0.198	1.10
Sei (<i>Coalfish</i>) (<i>Gadus virens</i>)					
Lys muskel (<i>White muscle</i>)	18.9	2.85	15.1	0.013	0.069
Mørk muskel (<i>Red muscle</i>)	17.7	3.29	18.6	0.210	1.11
Lange (<i>Ling</i>) (<i>Molva molva</i>)					
Lys muskel (<i>White muscle</i>)	19.6	3.09	15.8	0.012	0.061
Mørk muskel (<i>Red muscle</i>)	18.5	3.83	20.7	0.070	0.378
Brosme (<i>Torsk</i>) (<i>Brosmius brosme</i>)					
Lys muskel (<i>White muscle</i>)	19.4	3.33	17.2	0.005	0.026
Mørk muskel (<i>Red muscle</i>)	18.4	5.55	30.2	0.071	0.141

de fire undersøkte arter, fra 2.21 til 2.89, gj.sn. 2.5 $\mu\text{g/g}$ våt vekt. Regnet pr. g protein lå innholdet fra 12 til 15 $\mu\text{g/g}$. Det var en mindre variasjon for gjennomsnittsprøver av hele filetter enn funnet tidligere for torskefisker (BRÆKKAN & BOGE, 1960a). De fant verdier, fra 1.22 til 4.73, gj.sn. ca. 2.9 μg vitamin B₆ pr. g våt filet, med de laveste verdier for torsk og lyr, midlere verdier for lange og brosme og de høyeste innhold i sei og hyse. SØNDERGAARD (1959) fant for torsk 1.18—2.76, gj.sn. ca. 2.0 μg vitamin B₆ pr. g muskel.

I tabell 5 er oppsummert verdiene for vitamin B₆ i lys og mørk muskel fra 2—3 fisk av hver art. Som det framgår av tabellen er innholdet av vitamin B₆ av samme størrelsesorden i lys og mørk muskel både beregnet pr. g våt vekt og pr. g protein.

Vitamin B₆-innholdet i lever viser også moderate variasjoner, og er beregnet på våt vekt av samme størrelsesorden som i muskel, fra 2.10 til 4.3 $\mu\text{g/g}$. Dette er lavere enn for de fleste pattedyrlevre hvor innholdet ligger i området 6—10 μg pr. g. (SØNDERGAARD, 1959). Regnet på protein blir imidlertid innholdet av samme størrelsesorden, gj.sn. ca. 50 μg vitamin B₆ pr. g protein.

For rogn er det i den foreliggende undersøkelse bare prøver av umodne ovarier fra lange og brosme, som begge viste lave innhold. I spesielle undersøkelser er imidlertid vist at vitamin B₆-innholdet i rogn fra torsk viser sterk økning under de tidlige faser av ovariets modning, fra 0.04 $\mu\text{g/g}$ våt vekt i umoden tilstand til 2.5 $\mu\text{g/g}$ våt vekt i moden rogn (BRÆKKAN & BOGE, 1962a,b).

Vitamin B₆-bestemmelsene i melke ga spesielle problemer. BRÆKKAN & BOGE (1964) fikk sterk hemning av veksten i den mikrobiologiske analyse av melke fra sild, makrell og laksefisker, og kunne vise at hemningen skyldes intakte protaminer fra disse organer i ekstraktene. Melken fra torskefisker inneholder histoner, som ikke synes å føre til tilsvarende problem. Vi har imidlertid fått total veksthemning i noen prøver av melke fra torsk, et forhold vi ennå ikke har oppklart. Muligheten for dannelse av hemmende stoffer i melken under forplantningscyklus kan således ikke helt utelukkes. I egne prøver fra torskemelke er funnet ca. 0.1 μg vitamin B₆ pr. g våt vekt, sammenlignet med 0.27 og 0.82 $\mu\text{g/g}$ melke fra lange og brosme i den foreliggende undersøkelse.

Vitamin B₆-fordelingen i fordøyelseskanalen ble undersøkt ved analyser av magesekk, pylorus og tarmer. For alle arter viste pylorus de høyeste verdier, gj.sn. 1.64 $\mu\text{g/g}$ våt vekt, 11.8 $\mu\text{g/g}$ protein. Tilsvarende verdier for magesekk var 1.18 og 8.62 $\mu\text{g/g}$ for tarmer 0.91 og 6.14 $\mu\text{g/g}$. Verdien for tarmer fra lange var ekstra lav i den foreliggende prøve, likeså for milt og gjeller fra samme art. P.g.a. vanskeligheten med å skaffe usløyet lange, måtte kontroll av disse funn utstå.

Undersøkelser over fordelingen av vitaminer i nyrene ble foretatt på prøver fra torsk og lange. BRÆKKAN (1958) har påpekt at stikkprøver indikerte forskjell i fordelingen mellom for-nyre og bak-nyre. Organet har nemlig en langstrakt utforming. Dette er bekreftet for vitamin B₆ i den foreliggende undersøkelse, hvor innholdet i de bakre deler er 4—9 ganger større enn den forreste del. Gj.sn. verdier for for-nyre og bak-nyre var henholdsvis 1.18 og 5.18 μg vitamin B₆ pr. g våt vekt.

Milten inneholdt lite vitamin B₆ i alle de undersøkte arter, fra 0.22 til 0.62 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt. Hjerte viste i alle serier litt høyere verdier enn vanlig muskel, mens gjeller viste omtrent de halve verdier for muskel i tilsvarende art.

Biotin.

Biotin-innholdet i muskel varierte fra 0.010 til 0.061 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt, mot 0.026 til 0.072 $\mu\text{g}/\text{g}$ filet av samme arter rapportert i tidligere undersøkelse (BRÆKKAN & BOGE, 1960b). I begge undersøkelser viste sei betydelig høyere verdier enn de andre arter.

Av tabell 5 framgår det at den mørke muskel inneholder betydelig mere biotin enn den lyse muskel, for de undersøkte arter fra 6 til 22 ganger så meget. Særlig sei og torsk viste høye verdier for den mørke muskel, med ca. 0.2 μg biotin per g våt vekt og hele 1.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ protein. Sammenlignet med forekomsten av biotin i dyrisk vev er det bare lever som har tilsvarende høye innhold. Resultatene fra fordelingen av biotin såvel som vitamin B₆ støtter antagelsen at den mørke muskels funksjon er fortrinnsvis som organ ikke som muskel (BRÆKKAN, 1956).

Biotin-innholdet i lever viste meget høye verdier, fra 0.32—0.65, gj.sn. 0.52 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt. Beregnet på protein var tilsvarende verdier 4.25—12.8, gj.sn. 7.83 $\mu\text{g}/\text{g}$. Lever fra torskefisker er således ernæringsmessig en rik kilde for biotin.

De foreliggende prøver av umoden rogn fra lange og brosme viste gj.sn. 0.07 μg biotin/g våt vekt, 0.65 $\mu\text{g}/\text{g}$ protein. Moden rogn fra torsk (Tabell 1) viste 0.19 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt, 0.93 $\mu\text{g}/\text{g}$ protein. Disse verdier tilsvarende tidligere publiserte resultater fra undersøkelse av rogn fra torsk og lange, hvor gj.sn. verdiene var 0.17 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt og 0.66 $\mu\text{g}/\text{g}$ protein. (BRÆKKAN & BOGE, 1960b). Rogn kan således regnes blant de av våre næringsmidler som er gode kilder for biotin.

De foreliggende prøver av melke, moden fra torsk og umodne fra lange og brosme, viste biotin-innhold av samme størrelsesorden som rogn, gj.sn. 0.070 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt og 0.60 $\mu\text{g}/\text{g}$ protein.

Biotin-innholdet i fordøyelseskanalen viste stort sett samme verdier for magesekk, pylorus og tarmer, med gj.sn. verdier ca. 0.10 $\mu\text{g}/\text{g}$ våt vekt og 0.74 $\mu\text{g}/\text{g}$ protein.

Milten viste, som for vitamin B₆, lave innhold av biotín, gj.sn. 0.035 µg/g våt vekt.

Nyrene viste også for biotín en typisk forskjell for for-nyre og bak-nyre, med gj.sn. verdier henholdsvis 0.054 og 0.23 µg/g våt vekt.

Hjertet viste høye verdier hos alle undersøkte arter, gj.sn. 0.23 µg/g våt vekt.

Gjellene inneholdt fra 0.030—0.070, gj.sn. 0.045 µg/g våt vekt.

SUMMARY

Vitamins in Norwegian Fishes IV. Vitamin B₆ and biotin in different organs from gadus-fishes (Gadidae) caught off the coast of Norway.

The species cod (*Gadus morrhua*), coalfish (*Gadus virens*), ling (*Molva molva*) and torsk (*Brosmus brosme*) have been investigated.

The samples were collected from newly caught fish and analysed fresh or after storage at below — 15°C.

Vitamin B₆ was determined microbiologically using *Saccharomyces carlsbergensis* as testorganism. Biotin was determined microbiologically with *Lactobacillus plantarum*.

The results are summarized in Table 1—5, which have English subtitles.

In general the filets were good sources for vitamin B₆ and biotin. The white and red muscle contained about equal concentrations of vitamin B₆, whereas the red muscle contained 6 to 22 times as much biotin as the white muscle.

The liver is a fair source for vitamin B₆ but a very rich source for biotin.

The kidneys showed a difference between the front parts and the back parts, with about four times higher concentrations of both vitamin B₆ and biotin in the latter.

The results are briefly discussed.

LITTERATUR

- ATKIN, L., A. S. SHULTZ, W. L. WILLIAMS & C. N. FREY (1943). *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* *15*, 141.
- BRÆKKAN, O. R. (1965). *Nature* *178*, 747.
- (1958). *Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Teknologiske undersøkelser* *3*, No 8.
- BRÆKKAN O. R. & GJ. BOGE (1961a). *Tidskrift for Hermetikkindustri* *46*, 423.
- (1960b). *Ibid.* *46*, 467.
- (1962a). *Nature*, *193*, 394.
- (1962b). *Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Teknologiske undersøkelser* *4*, No 2.
- (1964). *Ibid.* *4*, No 6.
- LUNDE, G. & H. KRINGSTAD (1938). *Biochem. J.* *32*, 708.
- RABINOWITZ, J. C. & E. E. SNELL (1948). *J. Biol. Chem.* *176*, 1157.
- SØNDERGAARD, H. (1959). *Statens Husholdningsråds Faglige Meddelelser* nr. 1—2, (København).
- WRIGHT, L. D. & H. R. SKEGGS (1944). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* *56*, 95.