

OVER DEN INVLOED VAN HET
ZUUR-BASE-EVENWICHT IN DE
VOEDING OP DE EIWITSTOF-
WISSELING

DOOR

J. VAN EBBENHORST TENGBERGEN

SCHELTEMA & HOLKEMA'S BOEKHANDEL
EN UITGEVERSMAATSCHAPPIJ N.V. AMSTERDAM
1941

OVER DEN INVLOED VAN HET ZUUR-BASE-EVENWICHT
IN DE VOEDING OP DE EIWITSTOFWISSELING

OVER DEN INVLOED VAN HET
ZUUR - BASE - EVENWICHT IN DE
VOEDING OP DE EIWITSTOF-
WISSELING

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT
TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE
UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS
DR. B. BROUWER, HOOGLEERAAR IN DE
FACULTEIT DER GENEESKUNDE, IN HET
OPENBAAR TE VERDEDIGEN IN DE AULA
DER UNIVERSITEIT OP VRIJDAG, 31
JANUARI 1941, DES NAMIDDAGS TE
4 UUR PRECIES

DOOR

JACOBUS VAN EBBENHORST TENGBERGEN
GEBOREN TE HARDERWIJK

BIBLIOTHEEK EN LEESZALEN
DER GEMEENTE ROTTERDAM

SCHELTEMA & HOLKEMA'S BOEKHANDEL
EN UITGEVERSMAATSCHAPPIJ N. V. AMSTERDAM
1941

VOORWOORD

Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij een welkome gelegenheid, U, Hoogleeraren, Oud-Hoogleeraren en overige Docenten der Geneeskundige en Natuur-Philosophische Faculteiten der Utrechtsche Universiteit mijn dank te betuigen voor de wetenschappelijke opleiding, die ik van U heb mogen ontvangen. In het bijzonder U, Hooggeleerde Laméris ben ik zeer veel dank verschuldigd voor het vele, dat ik onder Uw leiding tijdens mijn assistentschap aan Uw kliniek mocht verwerven.

U, Hooggeleerde Jansen, Hooggeschatte Promotor, zeer grooten dank ben ik U verschuldigd. Uw leiding en hulp bij mijn werk waren voor mij van zeer groote waarde en zullen mij steeds in dankbare herinnering blijven. Uw aanmoediging op de oogenblikken, dat de beslommeringen van de geneeskundige praktijk mijn aandacht van mijn werk dreigden af te leiden, heb ik steeds op hoogen prijs gesteld.

Voorts betuig ik mijn hartelijken dank aan het geheele personeel van het Physiologisch-Chemisch Laboratorium voor zijn zeer gewaardeerde en belangrijke hulp, mij in zoo ruime mate betoond.

Aan de collegae, die mij bij mijn vestiging te Amsterdam op zoo vriendelijke wijze in hun midden opnamen, betuig ik mijn welgemeenden dank.

INHOUD

	Blz.
INLEIDING	1
LITERATUUROVERZICHT.	2
LITERATUURBESPREKING.	9
1. Doelstelling	9
2. Methoden van onderzoek	10
3. Tijdsduur van de proefneming	11
4. Verschillende diersoorten	11
5. Stikstofgehalte van de voeding	11
6. Eiwitsoort	12
7. Mineralen	13
STATISTISCHE METHODE	16
1. Gemiddelde	17
2. Standaardafwijking	17
3. Significantie	19
4. Standaardfout	20
5. Significantie van het verschil tusschen twee gemiddelden	21
6. Correlatie.	22
7. Regressie	24
EIGEN ONDERZOEK	26
A. Methodiek van het onderzoek.	26
1. Proefdiermateriaal	26
2. Voedsel	26
3. Bepaling van het eiwitminimum	27
4. Verschuiving van het zuur-base-evenwicht	27
5. pH-bepaling in de urine	28
6. Waardeering van het cijfermateriaal	29
B. Beschrijving van het onderzoek	29
1. Bepaling van het eiwitminimum	29

2. Samenstelling van de voedingszouten	37
3. Gewichtstoename met zuur- en basevormende zoutmengsels	39
CONCLUSIE	48
SAMENVATTING	50
SUMMARY	53
ZUSAMMENFASSUNG	56
LIJST DER GERAADPLEEGDE LITERATUUR	59

INLEIDING

In de voedingsleer heeft zich de meening gevestigd, dat het zuur-base-evenwicht van groot belang is; in het bijzonder wordt aan een basenoverschot een gunstige invloed op de eiwitstofwisseling toegeschreven.

Het was vooral de school van R a g n a r B e r g, welke een overschot aan basen in de voeding sterk propageerde. Zij baseert haar meening deels op experimenteel onderzoek, deels op theoretische overwegingen. Volgens deze is een verschuiving van het zuur-base-evenwicht in basische richting van belang, niet alleen wat betreft een eiwitsparende werking, doch vooral ook voor de gezondheid, en dientengevolge voor de levensduur van het organisme.

De suggestieve publicaties, welke van deze zijde verschenen, hebben een groot aandeel gehad in de verbreiding van deze opvattingen, en voerden tot een voedingsdogma.

In de literatuur wordt niet algemeen bevestiging omtrent de juistheid van het onderzoek van R. B e r g en medewerkers gevonden.

Dit was voor ons aanleiding, de over dit vraagstuk verschenen literatuur aan een hernieuwd onderzoek te onderwerpen.

Wij hebben getracht, voor de wisselende meeningen in de literatuur een verklaring te vinden.

In aansluiting hieraan verrichtten wij eenige dierproeven, welke de gelegenheid gaven, tot een eigen inzicht te komen en de grenzen vast te stellen, binnen welke beteekenis mag worden toegekend aan den invloed, welke verschuiving van het zuur-base-evenwicht op de eiwitstofwisseling, en in het algemeen op het organisme uitoefent.

LITERATUUR OVERZICHT

Mc. Collum en Hoagland (1) behoorden tot de eersten, die trachtten aan te toonen, dat een overschot aan basen in de voeding de stikstofhuishouding in gunstigen zin beïnvloedt. Zij bestudeerden de stikstofuitscheiding bij biggen, welke een *eiwitrijke* voeding kregen. Wanneer zij een alkalisch zoutmengsel toevoegden, werd de laagste stikstofuitscheiding verkregen. Neutrale zouten gaven matige verhooging, zure zouten een sterke verhooging van de stikstofuitscheiding.

Hierbij kan het volgende worden opgemerkt.

Het organisme tracht een overmaat aan zuur te neutraliseren door middel van anorganische en organische basen. Bestaat er een relatief of absoluut tekort aan anorganische basen, dan zal het organisme zich in belangrijke mate van organische basen bedienen. Verreweg het grootste aandeel in deze anorganische basen heeft de ammoniak. Bij een overmaat aan zuren kan dus een verhoogde ammoniakuitscheiding worden verwacht. De ammoniakvorming heeft in hoofdzaak plaats ten koste van de vorming van ureum. Wordt de totale stikstofuitscheiding meer en meer verlaagd, dan neemt dus het aandeel, dat de ammoniak daaraan heeft, toe, totdat de behoefte aan ammoniak de stikstofuitscheiding bepaalt. In de proeven van Mc. Collum en Hoagland was door eiwitvrije voeding de stikstofuitscheiding tot een zeer laag niveau teruggebracht. Iedere verhoogde behoefte aan ammoniakuitscheiding door toediening van zuurvormende zouten doet dus de stikstofuitscheiding toenemen.

De proeven van Mc. Collum en Hoagland blijken dan ook niet geschikt voor de bestudeering van eenigen invloed op de normale stikstof-stofwisseling.

Sherman en Gettler (2) verrichtten op zich zelf een onderzoek. Een gelijkblijvende voeding werd gedurende tien dagen gebruikt. De verschuiving naar de zure reactie werd

verkregen door de aardappelen uit het diëet te vervangen door rijst. Zij vonden een gelijkblijven van de totale stikstofuitscheiding. Echter werd de ammoniakuitscheiding belangrijk verhoogd door de rijstvoeding.

De zuurvorming van de rijst werd niet experimenteel bepaald, doch berekend uit de analyse van de voedingsmiddelen. Het eiwitgehalte van het voedsel was ten naaste bij adaequaat.

Hier moet opgemerkt worden, dat bij dit soort proefnemingen tal van onbekende factoren het resultaat vertroebelen, zooals later uitvoeriger besproken zal worden. Voor de eiwitvoeding is het eiwitgehalte ongeveer adaequaat. Door vervanging van de aardappelen door rijst blijft weliswaar het stikstofgehalte van de voeding gelijk; de vraag is, of ook nu het eiwitgehalte adaequaat zal zijn. Het is immers niet zeker, dat de verteerbaarheid en de volwaardigheid van de rijst-eiwitstoffen gelijk is aan die van de aardappelen. Bovendien is het gehalte aan vitaminen en mineralen niet gelijk gebleven.

De verhoogde uitscheiding van ammoniak door overmaat aan zuur, wordt nog eens bevestigd door Labbé (3), welke aan honden een vleeschvoeding gaf. De ammoniakuitscheiding werd hierdoor verhoogd. Zelfs alcalische zouten waren niet in staat, dit in belangrijke mate te verminderen.

De invloed van deze verhoogde ammoniakvorming op de stikstofhuishouding wordt dan pas belangrijk, als een tekort aan eiwitstoffen in de voeding bestaat. Bij adaequate eiwitvoeding is hiervan geen schadelijke invloed te verwachten.

Mc. Collum en Davis (4) toonden dan ook aan, dat ratten uitstekend groeien bij een groote variatie van het basengehalte van de voeding, mits de eiwittoevoer adaequaat, en het gehalte aan mineralen niet te gering is.

Het belangrijkste onderzoek werd verricht door Ragnar Berg (9, 10) en medewerkers. Afgezien van de resultaten, welke zij verkregen, is dit onderzoek daarom belangrijk, daar op grond hiervan een voedingsdogma werd opgebouwd, dat zijn invloed deed gelden in de voedingsleer.

R. Berg en C. Röse (5) bepaalden het minimum eiwit, dat voor instandhouding van het organisme voldoende is.

In uitgebreide proeven met vele verschillende voedings-

middelen stelden zij de balans op van in- en uitvoer van de stikstof.

C. R ö s e (6, 7) was instaat de eiwittoevoer terug te brengen tot ongeveer 25 gram per dag, zonder eenige schade te ondervinden in zijn algemeene lichamelijke gesteldheid, noch in vermindering van arbeidsprestatie. Dit lage niveau kon slechts bereikt worden bij een voeding, welke volgens zijn berekening een groot overschot aan basen bevatte. Als beste, meest basenrijke voedingsmiddelen vond hij aardappelen en melk, terwijl vleeschvoeding in zeer ongunstigen zin de stikstofbalans beïnvloedde.

Ditzelfde werd eveneens gevonden in proeven met den zoon van R ö s e (10), zij het dan ook, dat deze niet met een zoo geringe hoeveelheid stikstof in de voeding kon toekomen.

Het meest kenmerkende in de onderzoekingen van B e r g (9) is de wijze, waarop hij vaststelt, dat een zuur- of baseoverschot in de voeding bestaat. Van alle gebezigde voedingsmiddelen stelt hij het gehalte aan mineralen vast door analyse. Aan de hand van deze analyses *berekent* hij het zuur- of baseoverschot.

Deze berekeningen worden uitgevoerd, door de mineralen te waardeeren in *aequivalenten*.

Eén aequivalent is het moleculairgewicht, gedeeld door de valentie van de verbinding, waarin het element voorkomt. Voor zoover het de metalen betreft, kan dit geen aanleiding tot discussie geven. Anders wordt het echter, waar het de metalloïden betreft.

R a g n a r B e r g (10) neemt aan, dat het organisme het meest is gebaat bij een zoo ver mogelijk doorgevoerde oxydatie van de voedingsstoffen. In dien zin laat B e r g zich uit, wanneer hij spreekt van *eiwitlakken*. Hieronder verstaat hij die stikstofverbindingen, welke onvoldoende ver zijn geoxydeerd, zooals kreatinine en aminozuren.

Eigenaardig is, dat ook de vorming van ammoniak in de oogen van B e r g geen genade kan vinden, hoewel toch de stikstof in ureum niet verder is geoxydeerd dan in ammoniak.

Desondanks neemt B e r g aan, dat ureum de meest gunstige uitscheidingsvorm voor stikstof is.

Zoowel de fosfor als de zwavel geven bij de herleiding tot aequivalenten aanleiding tot twijfel.

De zwavel wordt behalve als sulfaat uitgescheiden in den vorm van organisch gebonden zwavel en in veresterden vorm. Niet alle uitgescheiden zwavel onttrekt dus basen aan het organisme.

De berekening van fosforaequivalenten volgens B e r g is slechts in uitzonderingsgevallen juist. Hij neemt aan, dat de fosfor als tertiair fosfaat wordt uitgescheiden. Ware dit zoo, dan zou de urine steeds sterk alcalisch moeten reageeren. Bij neutrale reactie van de urine kan aangenomen worden, dat het tweebasisch fosfaat wordt uitgescheiden, waarbij het fosforaequivalent met twee valenties moet worden berekend.

In dezen vorm verwijdt de fosfor dus minder basen uit het organisme, dan B e r g volgens zijn berekeningen aanneemt.

Als grootste bezwaar tegen het onderzoek van B e r g kan dan ook gelden, de chemische berekening van de aequivalenten, zonder dat deze op den *biologisch* meest gunstigen uitscheidingsvorm acht sloeg.

Het onderzoek van B e r g en R ö s e (10) werd zeer lang voortgezet. Zij vonden de laagste stikstofuitscheiding, als het voedsel zoowel in de voorperiode als tijdens de proefperiode een voldoende basenoverschot bevatte. De wijziging in het basen- en zuurgehalte werd bereikt door verandering van de voedingsmiddelen.

C. R ö s e (6, 7, 8) zette later alleen zijn proeven voort onder contrôle van A b d e r h a l d e n. Hij wist zich vier jaar lang in goede conditie te houden met een voeding van aardappelen en melk, waarbij flinke sportprestaties mogelijk bleken. Alleen ziekten, welke vergezeld gingen met verhoogde lichaamstemperatuur, vereischten een hooger eiwitgehalte van de voeding.

De proeven van B e r g en R ö s e zijn door vele anderen gecontroleerd.

W. H. J a n s e n (11) vond stikstofevenwicht bij een

toevoer van 0.08 gram stikstof per KG. lichaamsgewicht, in een voeding die 3546 calorieën per dag bevatte.

Voor het bereiken van een zuuroverschot in de voeding nam hij zuren of zuurvormende zouten in de thee.

Hij vond *geen* verhoogde stikstofuitscheiding in de urine. Alleen de darm scheidde meer stikstof uit door prikkeling van het slijmvlies. Zelfs door deze verhoogde uitscheiding door den darm mede te rekenen, kon hij geen verandering van het eiwitminimum vinden. Wel vond hij een eenigszins verhoogde stikstofuitscheiding bij voeding met havermeel. In de naperiode zonder zuuroverschot kon hij geen verhoogde uitscheiding van teruggehouden stikstofverbindingen vaststellen.

De meeste proeven op *groeïende* individuen, welke als contrôle op de proeven van *Berg* werden genomen, hadden een negatief resultaat.

Fuhge (13) nam proeven op kinderen van 10 tot 13 jaar.

Door de toevoeging van mineralen ontstonden lichte darmstoornissen, waardoor de resorptie onvolledig was. Dit was vooral het geval bij de zuurtoevoer. Ondanks dit feit was de stikstofretentie in de zuurperiode het grootst, n.l. 16.6% en 18.3%, terwijl in de alcalische periode slechts 9.2% en 8.6% in het lichaam werd teruggehouden.

Mej. *Baumgardt* (14) verrichtte haar onderzoek bij kinderen van 11 tot 13 jaar. Ondanks een vergaande wijziging in de zuur-baseverhouding werd de stikstofhuishouding niet beïnvloed.

Ook zij kon niet bevestigen, dat een zuurvoeding zou leiden tot onvolledige oxydatie van de stikstof. Zij vond n.l. geen verhoogde verbrandingswaarde van de urine bij voeding met overmaat aan zuur.

W. Laubender (15) vond in kortdurende proeven bij konijnen evenmin een belangrijken invloed van de toediening van zuren. 6.8 tot 20.6 millimol zoutzuur per KG. lichaamsgewicht, peroraal toegediend, verhoogde noch de totaalstikstof van de 24-uurs urine, noch de reststikstof in het bloed, de lever en de nieren. Daarentegen werd na aftrek van de ureum- en ammoniakstikstof de reststikstof van de 24-uurs

urine procentueel verhoogd. Deze laatste verhooging werd in het bijzonder gevonden bij dieren, die voortdurend met haver waren gevoed.

Hij komt tot de conclusie, dat acidose, veroorzaakt door zuurvormende mineralen, geen verhoogde eiwitafbraak geeft.

Givens en *Mendel* (16) namen proeven op honden.

Het voedsel bestond uit vleesch, gedroogd brood, afge-roomde melkpoeder en agar-agar, met een stikstofgehalte van ongeveer 10 gram per dag. Aan de voeding werd afwisselend natriumbicarbonaat, calciumoxyde of calciumlactaat of zoutzuur toegevoegd.

Zij vonden geen verschil in de stikstofbalans bij zure of basische voeding. De cijfers, welke zij verkregen, zijn te onregelmatig om hieruit verstrekkende conclusies te kunnen trekken. Er bestaat echter geen aanwijziging, dat zuurtoediening de stikstofbalans ongunstig zou beïnvloeden.

H. Steenbock, *V. E. Nelson* en *E. B. Hart* (17) gaven een zuurvormende voeding aan varkens en kalveren. Bij een normaal gehalte aan stikstof in de voeding vonden ook zij een verhooging van het ammoniakgehalte van de urine. Binnen ruime grenzen konden zij den zuur-, respectievelijk alcaligraad van de voeding varieëren, zonder de stikstofbalans te beïnvloeden en zonder dat eenige schade aan het organisme kon worden vastgesteld.

Tegenover deze negatieve bevindingen staan nog eenige onderzoekingen, die er op wijzen dat een invloed van het zuur-base-evenwicht kan bestaan.

Birkner en *Berg* (18) wezen er op, dat bij menschen de stikstofbehoefte afhankelijk is van de mineraalstofwisseling. Zij gronden dit op vermageringskuren met een voortdurend stikstofverlies.

Een dergelijke proef kan niets zeggen over de *behoefte* aan eiwit. Het zegt slechts iets over stikstofuitscheiding en de wijze, waarop dit plaats vindt.

Shohl en *Sato* (19) stelden bij kinderen een balans op van de stikstof en de mineralen, onder invloed van zuur (HCL) en base (NaHCO₃). De urine werd weinig veranderd in zuurgraad (pH 6—8). De stikstofuitscheiding is zonder

correlatie met de pH van de urine. In een zeer summier tabelletje wordt in vier voedingsperioden aangegeven, dat de stikstofretentie zou dalen, zoowel bij toediening van zuur als van alcali.

De slechte invloed van de toediening van basen wordt geconcludeerd uit cijfers, die bij narekening foutief blijken te zijn berekend. De gecorrigeerde cijfers kunnen slechts een minder gunstige stikstof-stofwisseling bij zuurtoediening doen vermoeden. Statistisch berekend zijn de cijfers echter niet significant.

Een uitgebreider onderzoek werd verricht door Addis, Mc. Kay en Mc. Kay (20). Zij stelden een onderzoek in naar nierbeschadiging door zuur of alcalisch diët. Hun proefdieren, albinoratten, werden gedurende 360 dagen op deze voeding gehouden.

Het bleek, dat de proefdieren op een alcalisch diët ongeveer even goed groeiden als op neutraal diët. Bij een zuurvoeding werd een verminderde groei gevonden. Dit verschil berust niet op de beschadiging van de nier door overmaat aan zuur. Zij vonden n.l. bij zuur diët weinig, bij alcalische voeding veelvuldige nierbeschadiging.

De wijziging in het zuur-base-evenwicht werd verkregen door toevoeging van verschillende mineralen.

Ook van Hollandsche zijde werd een onderzoek verricht. E. Brouwer (21) voedde koeien gedurende een half jaar met aangezuurd silogras. De proefdieren kwamen in minder goeden gezondheidstoestand. De uitscheiding van ammoniak nam toe, terwijl de alcalireserve daalde. Het lichaamsgewicht nam af. Toediening van natriumbicarbonaat nam deze verschijnselen weg.

Dit onderzoek zegt dus weinig over den invloed van het zuur-base-evenwicht op de stikstof-stofwisseling.

LITERATUUR BESPREKING

Uit het literatuuroverzicht blijkt, dat de verschillende onderzoekers niet tot een zelfde resultaat zijn gekomen.

Dit behoeft niet te bevreemden, wanneer wij in het oog houden, dat doelstelling en proefnemingen groote verschillen vertoonen.

Wij hebben getracht na te gaan, welke de factoren zijn, die op het verloop van de onderzoekingen invloed uitoefenen.

1. Doelstelling van het onderzoek.

Niet alle onderzoekers hebben zich rechtstreeks ten doel gesteld, den invloed van het zuur-base-evenwicht op de stikstof-stofwisseling na te gaan.

Het meest is bestudeerd de onderlinge verhouding van ammoniak en ureum in de urine. Wij zagen reeds, dat het onderzoek van Mc. Collum en Hoagland in werkelijkheid hierop gericht was. Hun bevindingen zijn later door vele anderen bevestigd.

Echter hebben niet allen de toename van ammoniak ten koste van de ureumuitscheiding op de zelfde wijze gewaardeerd. Men kan deze verschuiving beschouwen als een normale reguleering van het organisme, zonder hierin een na-deelige werking op de stikstof-stofwisseling te zien.

Ragnar Berg en zijn medewerkers beschouwen dit als een ongunstigen vorm van stikstofuitscheiding. De voeding, welke de ammoniakvorming doet toenemen, wordt door hen als minderwaardig en schadelijk beschouwd.

Is het nog twijfelachtig of verhoogde ammoniakuitscheiding ongewenscht is, anders wordt het, als blijken zou, dat de verhoogde ammoniakvorming tevens een verhoogde uitscheiding van de totale hoeveelheid stikstof met zich zou brengen.

Hierover nu bestaat bij de verschillende onderzoekers geen overeenstemming. Dit is ten deele te verklaren, door hun uiteenlopende wijzen van onderzoek.

2. Methoden van onderzoek.

De meest gebruikelijke methode is die, waarbij de hoeveelheid opgenomen en uitgescheiden stikstof langs chemisch-analytischen weg wordt bepaald, m.a.w. door de stikstofbalans te berekenen. Blijkt meer stikstof te zijn opgenomen dan uitgescheiden, dan spreken wij van een positieve balans, omgekeerd van een negatieve balans.

Berg, Birkner, Röse, Shohl en Sato vonden, dat verhooging van het gehalte aan zuurvormende mineralen in de voeding, de stikstofbalans in ongunstigen zin beïnvloedde.

De contrôleproeven van Jansen, Fuhge, Baumgardt, Givens en Mendel konden dit niet bevestigen.

Deze onderlinge tegenspraak zou verklaard kunnen worden door de groote moeilijkheden, welke deze methode met zich mede brengt. Het meest nauwkeurig werkten Berg en medewerkers, welke alle gebruikte voedingsmiddelen chemisch analyseerden.

Fuhge, Baumgardt en Jansen berekenden het stikstofgehalte van de voeding aan de hand van bestaande tabellen, waardoor groote fouten kunnen ontstaan.

De directe methode van meting van de stikstofbalans kan vervangen worden door groeibepaling van de proefdieren, welke met een zoo geringe hoeveelheid eiwit worden gevoed, dat nog juist de normale behoefte wordt gedekt.

Voor al bij het gebruik van kleinere en nog groeiende dieren, waarbij de bepaling van de stikstofbalans grootere kans op fouten geeft, kan de groeibepaling met voordeel worden gebruikt. Deze methode is slechts bruikbaar, als alle andere factoren, welke de groei beïnvloeden, uitgeschakeld kunnen worden. Zij heeft dan het voordeel boven de analytische methode, dat vele bronnen van technische fouten worden vermeden.

De groeibepalingsmethode werd toegepast door Mc. Collum en Davis, Lamb en Evvard, welke negatieve resultaten bereikten, en door Addis en medewerkers, welke wel een invloed door zuur-base-verschuiving vonden, zij het dan ook, dat zij hun cijfers niet statistisch op significantie onderzochten.

3. Tijdsduur van de proefneming.

Bij kortdurende inwerking van een overschot van zuur of base in de voeding worden slechts de reguleeringsmogelijkheden van het organisme bestudeerd.

Laubender, welke den invloed van een zuuroverschot gedurende eenige uren naging, vond hiervan geen invloed op de stikstofuitscheiding. Ook de proeven van Fuhge, Givens en Mendel, welke zich over eenige dagen uitstrekten, gaven negatieve resultaten. De zich over zeer langen termijn uitstreckende onderzoekingen van Röse, Berg en Addis gaven een min of meer duidelijken invloed aan.

4. Verschillende diersoorten.

Het gebruik van verschillende diersoorten kan eveneens als oorzaak van onderlinge tegenspraak worden aangemerkt. Carnivoren, welke reeds van nature een voeding tot zich nemen, welke een overschot aan zuurvormende ionen bevat, zullen op vermeerdering van dit zuurgehalte minder sterk reageeren dan herbivoren, welke een basenrijke voeding gewend zijn.

5. Stikstofgehalte van de voeding.

Ook hierin is groote verscheidenheid mogelijk.

Bij volledige stikstofonthouding, dus bij hongerende dieren of bij stikstofvrije voeding, wordt alle uitgescheiden stikstof aan het organisme onttrokken. Van een normale stofwisseling van de stikstof is hier geen sprake meer.

De proeven van Mc. Collum en Hoagland (1) met eiwitvrije voeding, en van Laubender (15) met hongerende dieren, kunnen dus geen uitsluitsel geven over den invloed van zuren of basen op de stikstof-stofwisseling.

Wanneer het voedsel wel eiwit bevat, kan het gehalte onvoldoende, juist voldoende, en ruim voldoende zijn.

Als aan het individu de vrije voedselkeus wordt gelaten, neemt het een hoeveelheid stikstof op, welke ruimschoots in de behoefte van het organisme voorziet.

Het is gebleken, dat de mensch per dag ongeveer 100 gram eiwit gebruikt, onafhankelijk van de totale hoeveelheid calorieën, welke worden opgenomen.

Deze hoeveelheid ligt ver boven de minimale behoefte.

Reeds Hindhede (22) toonde met zijn laboratorium-bediende Madsen aan, dat deze hoeveelheid niet noodzakelijk is om het organisme normaal te doen functioneeren. Het was hem mogelijk een reeks proefpersonen uitstekende sportprestaties te doen verrichten bij het gebruik van 45 gram eiwit per dag. Eigenaardig is dat al zijn proefpersonen later terugkeerden tot hun vroegere eiwitverbruik, ondanks het feit, dat zij zich tijdens de proefperiode zeer goed hadden gevoeld!

Carl Rösse (6, 7) bracht dit eiwitminimum zelfs terug tot 25 gram per dag bij een voeding, welke in hoofdzaak uit aardappelen bestond. De vraag is of een dergelijke voeding als fysiologisch moet worden beschouwd.

Stikstofbalansonderzoekingen kunnen verricht worden bij normale en zelfs overdadige eiwitvoeding. Over het algemeen werd hierbij geen invloed gevonden van een wijziging in het zuur-base-evenwicht (Fuhge, Baumgardt, McCollum en Davis).

Slechts Shohl en Sato (19) vonden een ongunstigen invloed van een zuuroverschot.

Zooals reeds werd opgemerkt, is het twijfelachtig, of deze conclusie uit hun cijfers mag worden getrokken.

Onderzoekingen bij het eiwitminimum doen de duidelijkste schommelingen in de stikstof-stofwisseling verwachten. Reeds een geringe invloed in ongunstigen zin laat zich op het organisme sterk gelden. R. Berg en medewerkers bedienen zich bij volwassen individuen bij voorkeur van deze methode.

Bij groeiende proefdieren wordt het eiwitminimum bepaald, door na te gaan bij welk eiwitgehalte nog juist voldoende groei wordt verkregen.

6. Eiwitsoort.

Wanneer de wijziging van het zuur-base-evenwicht wordt verkregen door verandering van de geheele voeding, moet noodzakelijkerwijze eveneens wijziging worden gebracht in de eiwitsoorten.

Worden bijv. voor een basische voeding aardappelen gebruikt, dan kan de voeding meer zuurvormend gemaakt worden, door de aardappelen te vervangen door rijst of andere graansoorten.

Hiermede is echter tevens verandering gebracht in de gebezigde eiwitsoort.

Dit behoeft geen bezwaar te zijn, als alle gebezigde eiwitten volwaardig zijn, en wanneer steeds een overmaat aan proteïnen aanwezig is. Anders wordt het echter, als gewerkt wordt bij het eiwitminimum.

Het eiwitminimum wordt niet bepaald door het stikstofgehalte, doch door het gehalte aan dat aminozuur, dat het eerst tot deficiëntie aanleiding zal geven. Wordt het eiwitgehalte verminderd tot even beneden de minimumbehoefte, dan wil dit niet zeggen, dat nu voor alle samenstellende aminozuren een deficiëntie bestaat. Veel meer blijkt het, dat één of meer aminozuren in te geringe hoeveelheid aanwezig zijn.

Deze deficiëntie aan één of meer aminozuren noemt men den limiteerenden factor in de eiwitvoeding.

Wanneer nu twee eiwitsoorten naast elkander worden gebruikt in een hoeveelheid, welke voor het eene op het minimum ligt, dan kan het zeer licht voorkomen, dat het andere bij het zelfde stikstofgehalte toch verre beneden dit minimum is gelegen door het aanwezig zijn van een dergelijken limiteerenden factor.

Den veiligsten weg bewandelt men in proeven bij het eiwitminimum door steeds gebruik te maken van dezelfde eiwitsoort. De wijziging in het zuur-base-evenwicht kan dan verkregen worden door verandering in de voedingszouten.

Berg en Rösse wijzigden steeds de gebezigde eiwitsoort en bepaalden daarvoor de minimumbehoefte. De onderlinge verschillen schreven zij toe aan het basengehalte, terwijl niet vast staat, dat deze verschillen niet even goed kunnen zijn ontstaan door de limiteerende factoren van hun eiwitsoorten.

7. Mineralen.

Het minerale bestanddeel kan in de voeding aanwezig zijn als afzonderlijk toegevoegde zouten, of als normaal bestand-

deel van de voedingsstoffen. In het laatste geval is men niet vrij, het mineralengehalte te wijzigen zonder tevens de andere voedingsstoffen te veranderen. Het voordeel is echter, dat een groote verscheidenheid van mineralen wordt toegediend in physiologische verhoudingen. Sherman en Gettler, Birkner, Berg en Röse bedienden zich van deze methode. Hierboven werd reeds één van de bezwaren tegen deze methode uiteengezet.

Een tweede bezwaar is, dat slechts langs analytischen weg het gehalte aan mineralen is na te gaan. Berg heeft dit voor een groot aantal voedingsmiddelen gedaan. Bij de bespreking van de literatuur zagen wij reeds, dat hij op eigen wijze het mineralengehalte waardeert. Zijn aequivalententheorie heeft het bezwaar, dat deze geheel op chemisch-theoretische gronden is gefundeerd zonder rekening te houden met den physiologischen uitscheidingsvorm van de mineralen.

Wanneer hij dus berekent, dat een voeding een overschot aan basen bevat, zal dit nog gecontroleerd moeten worden aan de zuurgraad van de urine.

Bij voeding met mineralenarme voedingsstoffen heeft men het geheel in de hand een te voren vastgesteld mineralengehalte toe te voegen. Hierbij moeten de volgende voorzorgen in acht genomen worden:

a. De gebruikte mineralen mogen het organisme niet overmatig prikkelen. De kinderen van Fuhge kregen darm-prikkeling en slechte resorptie door overmatige minerale voeding.

b. De mineralen moeten in voldoende hoeveelheid worden toegevoegd. Mc. Collum en Davis toonden reeds aan, dat te gering mineralengehalte de groei van ratten sterk belemmert.

c. De voedingszouten moeten alle noodzakelijke elementen bevatten. Voor kortdurende proeven kan desnoods worden volstaan met de toediening van een enkel zuur- of basisch-makend agens, daar in het organisme nog voldoende mineralen in reserve zijn. Wanneer de voedingsproeven langer zullen worden voortgezet, kan zich al spoedig het tekort aan de ontbrekende elementen kenbaar maken door onvoldoenden groei of ziekten.

Samenvatting.

In het kort kan worden gezegd, dat bij voedingsproeven voor de bestudeering van den invloed van het zuur-base-evenwicht op de stikstof-stofwisseling op de volgende punten gelet moet worden.

- a.* Lang voortgezette voedingsproef.
- b.* Als diersoort is de omnivoor het meest geschikt.
- c.* Bij stikstofminimum zijn de beste resultaten te verwachten.
- d.* Voor volwassen individuen is het onderzoek volgens de stikstofbalansmethode aangewezen, voor groeiende dieren is de groeibepaling te verkiezen.
- e.* Gebruik van steeds dezelfde eiwitsoorten.
- f.* Gebruik van samengestelde zoutmengsels.

STATISTISCHE METHODE

Mijn eigen onderzoek werd verricht op reeksen albino-ratten; bij deze proefdieren werd de groei en de reactie van de urine bepaald. Door de biologische strooiing werden bij groei-bepalingen zeer uiteenlopende getallen gevonden. Zonder een juiste statistische bewerking waren deze getallenreeksen niet vergelijkbaar.

In het verloop van mijn proefnemingen bleek het noodzakelijk, de verkregen resultaten aan een nauwkeurig statistisch onderzoek te onderwerpen, hetwelk in het kort hier uiteengezet zal worden. Voor een nadere bestudeering hiervan kan verwezen worden naar de desbetreffende literatuur.

In hoofdzaak werden de werken van Donald Mainland (23) „The treatment of clinical and laboratory data” en van R. A. Fisher (24) „Statistical methods for research workers” geraadpleegd.

De benaming en het teekenschrift werden geheel ontleend aan Fisher.

Een veel verbreide meening is, dat een statistisch onderzoek des te betrouwbaarder is naarmate het aantal gegevens groter is. Dit is niet steeds juist. Een zeer groot materiaal kan bezwaarlijk met dezelfde zorg worden bewerkt als een kleine selecte groep. Het omslachtig werken met een groote reeks proefdieren komt gewoonlijk niet de nauwkeurigheid der bewerking ten goede. Bovendien kan om economische redenen het proefdiermateriaal niet tot in het oneindige uitgebreid worden.

Een kleine en zorgvuldig bewerkte reeks proefdieren kan beschouwd worden als een monster¹⁾ uit een oneindig groote

¹⁾ Monster' In de Engelsche literatuur wordt hiervoor gebruikt het woord „sample”. Het is moeilijk in het Hollandsch hiervoor een equivalent te vinden. Prof. Dr. M. J. van Uven te Wageningen was zoo vriendelijk, ons hierbij behulpzaam te zijn. Hij adviseerde, het woord sample te vertalen door „steekproef” of „monster”. Wij hebben gemeend aan het laatste woord de voorkeur te moeten geven.

reeks. Een dergelijk monster geeft dan de afspiegeling van het groote materiaal weer. De waarden uit deze monsters verkregen zullen steeds in meerdere of mindere mate afwijken van de theoretische waarden, welke verkregen worden uit een oneindig groot materiaal. Het is de taak van de statistische bewerking om na te gaan in hoeverre de resultaten, verkregen met kleine monsters, van waarde zijn.

1. Gemiddelde.

De afzonderlijke bepalingen in een monster zullen steeds in meerdere of mindere mate van elkaar afwijken.

De verkregen waarden zijn gegroepeerd om een gemiddelde waarde.

Nemen wij een serie $x_1, x_2, \dots, x_{n'}$, van n' termen van de varieerende grootte x . De som van de termen x , gedeeld door het aantal termen (n'), geeft de gemiddelde waarde van x in deze serie aan.

De som van de termen x geven wij aan door: $S(x)$.

Het (arithmetisch) gemiddelde wordt aangeduid door $\bar{x}$.

In formule:
$$\bar{x} = \frac{S(x)}{n'}$$

2. Standaardafwijking.

De termen uit een serie metingen verschillen alle min of meer van het gemiddelde $\bar{x}$, zoowel in positieve als in negatieve richting.

Het totaal van alle verschillen in positieven zin is even groot als het totaal van de negatieve verschillen. De algebraïsche som van alle verschillen is dus gelijk nul.

Zetten wij van een homogeen materiaal een oneindig aantal termen in een grafiek uit, op de abscis de grootte van het verschil, op de ordinaat de frequentie, waarmee deze verschillen gevonden worden, dan wordt een curve verkregen, welke overeenkomst vertoont met de kromme van Gauss. Theoretisch zijn alle waarden van min-oneindig tot plus-oneindig mogelijk. Komt de verkregen curve geheel overeen met de kromme van Gauss, dan spreken wij van „normale verdeling”. Liggen de meeste afwijkingen dicht bij het gemiddelde, dan verkrijgen wij een steil verlopende curve;

liggen zij wijd verspreid, dan verloopt de curve met een flauwe stijging naar het midden.

Hoe verder een term van het midden der kromme affligt, hoe geringer de kans wordt, dat wij deze bij toeval zullen vinden. Deze kans is te berekenen en heeft groote statistische waarde. Een maatstaf moet gevonden worden om te berekenen hoever de afstand van het gemiddelde is, wil een afwijking slechts een bepaald aantal keeren in een monster gevonden worden.

Dezen maatstaf vinden wij in de *standaardafwijking*.

(De standaardafwijking geeft dat punt in de kromme weer, waar deze het steilste verloopt).

De standaardafwijking kan berekend worden uit de volgende formule:

$$\sqrt{\frac{\text{som v.d. vierkanten v.d. afwijkingen v.h. gemiddelde}}{\text{totaal aantal onafhankelijke afwijkingen}}}$$

Passen wij dit toe op een serie metingen in een reeks proef-dieren, dan kunnen wij het gemiddelde $\bar{x}$ bepalen volgens: $\bar{x} = S(x)/n'$.

Iedere term x uit de serie heeft een afwijking van het gemiddelde $(x - \bar{x})$.

De algebraïsche som van alle afwijkingen $S(x - \bar{x})$ is gelijk nul.

Wanneer wij het totaal aantal afwijkingen minus één, d.i. $(n' - 1)$ afwijkingen gevonden hebben, dan is hierdoor reeds de laatste afwijking bepaald, daar deze gevonden kan worden door de som van $(n' - 1)$ afwijkingen van nul af te trekken. Deze laatste afwijking kan dus in de reeks worden ingevuld, zonder zijn waarde afzonderlijk uit de metingen te berekenen. Deze afwijking is *afhankelijk* van de reeds gevonden waarden.

Slechts aan $(n' - 1)$ afwijkingen kan een onderling onafhankelijke functie worden toegekend. Wij noemen dit het aantal *graden van onafhankelijkheid* en geven hieraan het teeken n .

$$n = n' - 1$$

De vierkanten van de afwijkingen hebben alle een positieve waarde. De som van deze vierkanten $(S(x - \bar{x})^2)$ is dus

steeds een positief getal. In formule kunnen wij de standaardafwijking s aldus schrijven:

$$s = \sqrt{\frac{S(x - \bar{x})^2}{n' - 1}}$$

3. Significantie.

De kromme van *G a u s s* omsluit een veld, waarin alle te verwachten afwijkingen zijn gelegen. Naar beide einden wordt het aantal afwijkingen steeds geringer. Wanneer wij van het midden uit aan beide zijden tweemaal de standaardafwijking op de abscis afzetten, dan omsluit het hierdoor afgesneden veld ongeveer 95% van alle te verwachten afwijkingen (aan beide zijden is $2\frac{1}{2}\%$ van het totaal aantal afwijkingen afgesneden).

In een monster van twintig waarnemingen kunnen wij dus slechts één keer een waarde verwachten, welke buiten dit veld ligt. Wanneer het gemiddelde van een monster ver verwijderd ligt van het ware gemiddelde van een oneindig groot materiaal, dan bestaat de gerechte twijfel, of het onderzochte monster genomen is uit dit materiaal. Ligt het ware gemiddelde buiten de grenzen, welke door den afstand van tweemaal de standaardafwijking van het gevonden gemiddelde gevormd worden, dan nemen wij aan, dat het onderzochte monster niet behoort tot het hiermede vergeleken oneindig groot materiaal. Wij noemen dit een *significant* verschil tusschen het ware gemiddelde en het gemiddelde uit het onderzochte monster.

Ligt het ware gemiddelde binnen het door deze grenzen omsloten veld, dan wordt gerekend, dat *geen* significant verschil bestaat tusschen het monster en het oneindig groot materiaal, waarmede dit is vergeleken.

Willen wij nog hooger eischen aan de zekerheid stellen, dat een monster verschilt met een hiermede vergeleken materiaal, dan kunnen wij de significantiegrens stellen bij driemaal de standaardafwijking. Wij spreken dan van een *hoogst significant* verschil.

De aldus gestelde significantiegrenzen worden uitgedrukt in de grootheid *P* (Probability). Wij zagen, dat slechts 5% kans bestaat in een monster een afwijking te vinden, welke

verder dan tweemaal de standaardafwijking van het gemiddelde verwijderd ligt. Deze kans wordt uitgedrukt door $P = 0.05$. Vinden wij in de tabellen van *F i s h e r* een waarde $P = 0.10$, dan wil dit zeggen, dat de kans een bepaalde afwijking te vinden, voor 10% op toeval berust en geen significante beteekenis heeft. Daarentegen heeft een waarde van $P = 0.01$ zeer hoge significantie.

4. *Standaardfout* (Standard Error).

Nemen wij uit een zeer groote reeks metingen meerdere monsters, dan zullen de gemiddelden van deze monsters afwijken van het gemiddelde van de geheele serie, dus van het ware gemiddelde. De frequentieverdeeling van deze gemiddelden heeft een top bij het ware gemiddelde en loopt naar beide zijden af. Deze verdeeling neigt sterk naar de normale verdeeling en is hiermede gelijk te stellen.

De groepeerings rond het ware gemiddelde maakt het mogelijk van deze serie gemiddelden van de monsters een eigen standaardafwijking vast te stellen, welke genoemd wordt „*Standaardfout van het gemiddelde*” (S.E.).

Met de standaardfout is te berekenen, in hoeverre het gevonden gemiddelde uit een monster van het ware gemiddelde kan verschillen.

De standaardfout v. h. gemiddelde voor ieder monster, hoe klein ook, is steeds:

$$\pm \frac{\text{standaardafwijking oorspronkelijke serie}}{\sqrt{\text{aantal termen in het monster}}}$$

In de praktijk is de ware standaardafwijking niet bekend, doch wordt uit het monster zelf bepaald. Dit leidt niet tot belangrijke fouten, mits bij kleine monsters de juiste voorzorgen bij de verdere bewerking in acht worden genomen.

De standaardfout kan dus berekend worden uit:

$$\text{S.E.} = \pm s / \sqrt{n}$$

In publicaties is het voldoende voor ieder gemiddelde op te geven: 1°. het aantal, termen van de reeks (n'), 2°. het

gevonden gemiddelde ($\bar{x}$), 3°. de standaardfout (S.E.). De statistische grootheden, waaruit de S.E. werd verkregen, kunnen hiermede steeds worden berekend.

De standaardfout wordt achter het gemiddelde geschreven, voorzien van het plusminusteeken.

Willen wij weten, hoeveel een gevonden gemiddelde kan verschillen van het ware gemiddelde uit een oneindig groote reeks, dan moeten wij naar beide zijden tweemaal de S.E. afzetten.

Hebben wij b.v. gevonden een gemiddelde van 15 ± 1 , dan wil dit zeggen, dat het ware gemiddelde zal liggen tusschen 13 en 17. Er bestaat slechts 5% kans, dat het ware gemiddelde onder de 13 of boven de 17 is gelegen.

5. *Significantie van het verschil tusschen twee gemiddelden.*

Wanneer wij twee reeksen proefdieren met elkaar willen vergelijken, dan nemen wij uit beide een monster. Van deze monsters worden de gemiddelden en hun standaardfout berekend.

Om na te gaan, of beteekenis kan worden toegekend aan het verschil tusschen de gemiddelden, wordt de S.E. van dit verschil bepaald.

De S.E. van het verschil tusschen twee gemiddelden wordt bij groote reeksen gevonden door de S.E., van beide gemiddelden bij elkander op te tellen.

Overtreft het verschil tweemaal zijn S.E. dan heeft dit verschil een significante beteekenis. Dit wil zeggen, dat het verschil zich significant onderscheidt van nul.

Om den significantiefactor P in kleine monsters nauwkeurig te bepalen, wordt gebruik gemaakt van de volgende formule:

$$t = \frac{\text{verschil}}{\text{S.E. v. h. verschil}}$$

F i s h e r berekende de waarde van t voor een reeks significantiefactoren. Hij stelde een tabel op, waaruit de significantiefactor is af te lezen bij een bepaalde waarde voor t en n (aantal graden van onafhankelijkheid).

Bij de vergelijking van twee kleine monsters vereischt de

berekening van de S.E. van het verschil bijzondere voorzorgen. De S.E. van het verschil wordt dan n.l. berekend door de samenvoeging van de beide sommen van de quadraten van de afwijkingen, en deeling door het totaal aantal graden van onafhankelijkheid.

Na vereenvoudiging, welke wij hier niet nader zullen omschrijven, wordt de volgende formule gevonden, waarbij $\bar{x}_1 - \bar{x}_2$ het verschil van beide gemiddelden, n'_1 en n'_2 het aantal termen in beide reeksen voorstelt:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s} \sqrt{\frac{n'_1 \times n'_2}{n'_1 + n'_2}}$$

Het aantal graden van onafhankelijkheid in de eerste reeks is $n'_1 - 1$, dat van de tweede reeks is $n'_2 - 1$.

Het totaal aantal graden van onafhankelijkheid is $n'_1 + n'_2 - 2$.

6. *Correlatie.*

Wanneer twee verschillende factoren in een proefneming bestudeerd worden, kan het van belang zijn, na te gaan, in hoeverre deze factoren van elkander afhankelijk zijn.

Zoo kunnen wij bijv. onderzoeken, in hoeverre lengte en gewicht samengaan bij groeiende dieren.

Den onderlingen samenhang van twee of meer factoren noemen wij *correlatie*.

De grootte van de onderlinge afhankelijkheid wordt uitgedrukt in den correlatiecoëfficiënt.

De correlatiecoëfficiënt is een grootte, welke varieert van 0 tot 1. Zijn de factoren zeer vast aan elkander gekoppeld, dan benadert de coëfficiënt de één, bestaat in het geheel geen verband tusschen beide factoren, dan is de correlatiecoëfficiënt nul. Hoe grootter de coëfficiënt is, hoe belangrijker de correlatie dus is.

Van de vereenvoudigde methoden om den correlatiecoëfficiënt te berekenen, willen wij de volgende in het kort beschrijven, zonder in te gaan op de wiskundige afleiding. Voor de duidelijkheid wordt beschreven de correlatie tusschen lengte en gewicht van een serie proefdieren.

De volgende berekeningen moeten worden gemaakt:

a. De gemiddelde lengte en het gemiddelde gewicht worden bepaald.

b. De gemiddelde lengte wordt van de lengte van ieder proefdier afgetrokken, waarbij het juiste plus- of minteken in acht wordt genomen. Ditzelfde wordt voor de gewichten gedaan.

c. Voor ieder proefdier wordt zijn lengteafwijking vermenigvuldigd met zijn gewichtsafwijking, wederom met inachtneming van het juiste teken. De som van deze afwijkingen, gedeeld door het aantal proefdieren minus één is het *Gemiddelde Product*. (Het aantal graden van onafhankelijkheid is hier weer één minder dan het aantal dieren).

d. De standaardafwijking van de gemiddelde lengte en de standaardafwijking van het gemiddelde gewicht worden berekend, eveneens met als deeler het aantal proefdieren minus één.

De beide standaardafwijkingen worden met elkander vermenigvuldigd, met verwaarloozing van het plus- en minteken.

De correlatiecoëfficiënt „r” wordt dan gevonden als volgt:

$$r = \frac{\text{gemiddeld product van de afwijkingen}}{\text{product van de standaardafwijkingen}}$$

De aldus gevonden correlatiecoëfficiënt moet worden onderzocht op significantie.

Fisher geeft hiervoor zijn tabel V.A., waaruit direct de significantiefactor P. kan worden afgelezen voor de waarden 0.10, 0.05, 0.02, 0.01. Het aantal graden van onafhankelijkheid is hier weer twee minder dan het aantal proefdieren.

Dus $n = n' - 2$.

De significantiefactor P geeft ook hier weer aan, welke kans er bestaat, dat de gevonden correlatiecoëfficiënt bij toeval gevonden wordt in een materiaal, waarin in werkelijkheid geen correlatie bestaat.

Vinden wij dus een significantiefactor $P = 0.01$, dan wil dit zeggen, dat slechts 1% kans bestaat, een dergelijke correlatiecoëfficiënt te vinden in een monster uit een oneindig groot materiaal, waarin de ware correlatiecoëfficiënt nul is. De gevonden correlatiecoëfficiënt is hierbij dus hoogst significant.

Voor nauwkeuriger bepaling van P kan wederom gebruik worden gemaakt van de standaardfoutmethode, volgens de formule

$$t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \cdot \sqrt{n} \quad (n = n' - 2),$$

waarbij de significantiefactor is af te lezen uit de tabel voor t van R. A. Fisher.

Over den correlatiecoëfficiënt kan het volgende worden opgemerkt:

a. Vinden wij geen significantie, dan wil dit niet zeggen, dat geen correlatie bestaat, doch dat deze uit het onderzochte materiaal niet is gebleken.

b. Vinden wij een significante correlatie, doch is de coëfficiënt klein, bijv. 0.1 of 0.2, dan is de gevonden correlatie gewoonlijk van weinig practisch belang.

c. Een significante correlatiecoëfficiënt is op zichzelf geen bewijs voor het werkelijk bestaan van een correlatie. De onderzoeker moet uitmaken, of binnen het kader van het onderzoek een redelijke grond voor deze correlatie te vinden is.

7. Regressie.

De correlatie tusschen twee factoren, bijv. lengte en leeftijd van proefdieren kan uit twee gezichtspunten worden beschouwd. Door den samenhang van beide factoren kunnen wij nagaan, welke lengte behoort bij een bepaalden leeftijd.

Den leeftijd nemen wij dan als vaststaanden factor aan.

Hierbij behoort een gemiddelde lengte, welke *afhankelijk* is van den *onafhankelijken* leeftijdsfactor. Wij spreken nu van de *regressie van lengte op leeftijd*.

Omgekeerd kan de lengte als vaststaande, onafhankelijke factor worden aangenomen, de leeftijd als afhankelijke factor.

In dit geval spreken wij van een *regressie van leeftijd op lengte*. Uit dit voorbeeld blijkt, dat een correlatie in het algemeen ontleed kan worden in twee regressies.

Beide regressies zijn niet gelijkwaardig.

Wanneer een correlatie bestaat tusschen de factoren x en y, dan kan deze correlatie zijn oorzaak vinden in de sterke

beïnvloeding van factor x door factor y, terwijl in omgekeerden zin niet de minste beïnvloeding aanwezig is.

De regressie wordt uitgedrukt in een regressiecoëfficiënt b. De grootheid b geeft aan, in welke mate factor y zich wijzigt bij verandering van factor x. De berekening van deze wijziging geschiedt volgens de formule:

$$Y = \bar{y} + b(x - \bar{x}),$$

waarbij b de regressiecoëfficiënt van y op x voorstelt, en Y de verwachte waarde van de afhankelijke grootheid y voor iedere waarde van de onafhankelijke grootheid x is.

De formule, waaruit b gevonden wordt, luidt

$$b = \frac{S(y(x - \bar{x}))}{S(x - \bar{x})^2},$$

waarbij x den onafhankelijken, y den afhankelijken factor voorstelt. Voor de afleiding van deze formule kan worden verwezen naar Fisher.

Evenals de correlatiecoëfficiënt wordt de regressiecoëfficiënt onderzocht op significantie met behulp van de S.E.-methode, waarbij de tabel voor t wordt gebezigd.

Voor de berekening van de S.E. wordt verwezen naar de desbetreffende literatuur.

De grenzen, waartusschen de factor b met 95% zekerheid gelegen is, worden gevonden door tweemaal de S.E. naar beide zijden van b af te zetten.

EIGEN ONDERZOEK

A. METHODIEK VAN HET ONDERZOEK.

1. *Proefdiermateriaal.*

Voor deze voedingsproeven zijn ratten geschikte proefdieren. Het zijn omnivoren, hebben een snellen en constanten groei, en bieden de mogelijkheid zeer uiteenlopende voedsels te bezigen.

Wij maakten gebruik van de albinoratten, waarvan reeds vele generaties in het Physiologisch-Chemisch Laboratorium te Amsterdam werden gekweekt. Deze rattenstam is vrij van ziekten en vertoont een zeer gelijkmatigen groei.

De dieren worden in afzonderlijke kooien gehouden, waarbij de bodem bestaat uit een grof rasterwerk. Dit voorkomt het eten van de eigen faeces.

De proefdieren werden direkt na het spenen gebruikt.

Zij hebben dan een gewicht van 30 tot 40 gram. Daar de groei tot 100 gram geheel gelijkmatig is, werden de meeste proeven tot dit gewicht voortgezet.

De proefdierreeksen werden samengesteld uit mannetjes en wijfjes, welke zooveel mogelijk verwant waren.

De nesten werden gelijkelijk over de te vergelijken dierreeksen verdeeld, waarbij zorg werd gedragen, dat de verhouding van mannetjes tot wijfjes in alle reeksen gelijk was.

2. *Voedsels.*

De voedsels bestaan uit gezuiverde grondstoffen in fijnen poedervorm. Door herhaald zeven en mengen werd een homogeen mengsel verkregen.

De voedsels bestaan uit natuurlijke grondstoffen en zoutmengsels. Zij bevatten een bekende hoeveelheid vetten, koolhydraten en eiwitten met een adaequate hoeveelheid vitaminen.

(Voor ratten is toevoeging van vitamine C niet noodig). De zoutmengsels werden steeds in dezelfde hoeveelheid toegevoegd.

Deze voedingszouten zijn samengesteld uit een mengsel van alle noodzakelijke chemische elementen.

De wijziging in het gehalte aan zuren en basen werd verkregen door de zouten in hun onderlinge verhouding te wijzigen.

De voedsels werden steeds met graagte gegeten, terwijl niet kon worden opgemerkt, dat aan een bepaald voedsel de voorkeur werd geschonken.

De proefdieren werden in hun voedselopname niet beperkt, daar gebleken is, dat niet de limiteerende groeifactor, doch het calorieëngehalte de opgenomen hoeveelheid voedsel bepaalt.

3. *Bepaling van het eiwitminimum.*

Als onderzoekmethode werd gekozen de groeibepaling bij het eiwitminimum.

Aan een serie proefdierenreeksen werden voedsels toegediend, welke een stijgende hoeveelheid eiwit bevatten. Door geregelde weging werd bepaald, bij welk eiwitgehalte nog juist voldoende groei werd verkregen. Deze voedsels zijn volwaardig in gehalte aan vet, koolhydraten, mineralen en vitaminen. Het eiwitgehalte van de gebezigde grondstoffen werd bepaald door middel van de micro-Kjeldahl-analyse.

4. *Verschuiving van het zuur-base-evenwicht.*

Het zuur-base-evenwicht werd beïnvloed door aan de voedsels zoutmengsels van verschillende samenstelling toe te voegen.

Voor de bepaling van het eiwitminimum werd gebruik gemaakt van het zoutmengsel, zooals dit voor de meeste voedingsproeven in het Physiologisch-Chemisch Laboratorium te Amsterdam wordt gebruikt. Dit zoutmengsel geeft aan de urine een vrijwel neutrale reactie. Voor onze proeven werden nieuwe mengsels samengesteld, welke alle elementen bevatten, die voor het organisme noodzakelijk geacht kunnen worden. Zij onderscheiden zich van elkander door hun gehalte aan zuren en basen.

5. pH.-bepaling in de urine.

De zuur of alcalisch makende werking van de voedingszouten werd nagegaan aan de reactie van de urine.

Voor de pH.-bepaling in de urine stonden eenige wegen open. In de eerste plaats kan de reactie bepaald worden in de hoeveelheid urine, welke in vierentwintig uur geloosd wordt. Om deze urine zoo zuiver mogelijk op te vangen, wordt het proefdier in een stofwisselingskooi geplaatst.

Deze kooien maken het mogelijk, urine en faeces afzonderlijk op te vangen. Ter voorkoming van bederf en inwerking van de lucht wordt in het urinerecipient een weinig toluol gebracht.

In vierentwintig uur is dan voldoende urine geproduceerd om hierin de waterstofionenconcentratie te bepalen.

Bij de door ons gebruikte poedervormige voedsels bleek de urine echter steeds sterk verontreinigd te zijn met voedselresten, welke de reactie in niet onbelangrijke mate deed verschuiven naar den alcalischen kant.

Gezocht werd naar een methode om de urine op te vangen op het oogenblik van loozing. De aldus verkregen urine is geheel vrij van verontreinigingen.

De versch geloosde urine werd verkregen door blaaslediging onder dwang, volgens de methode, zooals die is beschreven door Addis, Mc. Kay en Mc. Kay (20).

Het proefdier wordt met den kop in een kolfje gebracht, waarin zich een weinig aether bevindt. Bijna onmiddellijk volgt hierop lediging van de blaas. Gewoonlijk wordt niet meer dan slechts enkele druppels verkregen. De urine wordt opgevangen op een horlogeglas en zoo snel mogelijk wordt de reactie bepaald.

De nauwkeurige bepaling van de waterstofionenconcentratie in deze kleine hoeveelheden urine is mogelijk langs electrometrischen weg.

Daar een groot aantal bepalingen snel moesten worden uitgevoerd, zochten wij naar een eenvoudiger werkwijze en vonden deze in de colorimetrische pH.-bepaling met Lyphanepapier.

Hiermede kunnen snel en eenvoudig pH.-bepalingen worden uitgevoerd in enkele druppels urine.

Het Lyphanepapier geeft geen grooter nauwkeurigheid, dan tot één decimale. Dit lijkt een nadeel, echter bleek grooter nauwkeurigheid voor onze proeven niet noodzakelijk te zijn. In ieder geval is deze methode daarom al te verkiezen boven metingen in de vierentwintiguursurine, doordat de urine-monsters hierbij absoluut zuiver konden worden verkregen.

6. Waardeering van het cijfermateriaal.

Er werd naar gestreefd het cijfermateriaal zoo veel mogelijk statistisch te onderzoeken.

Van de gewichtstoename van de proefdieren werd voor iedere dierreeks het gemiddelde en de standaardfout berekend. Hiermede werden de gevonden verschillen op significantie onderzocht.

Evenzoo werd gehandeld met de zuurwaarden van de urine.

Tenslotte werden de regressie- en correlatiecoëfficiënten tusschen urine pH. en groei berekend en onderzocht op significantie. Voor de gebruikte statistische methoden kan worden verwezen naar het desbetreffende hoofdstuk.

B. BESCHRIJVING VAN HET ONDERZOEK.

1. Bepaling van het eiwitminimum.

De eerste opgave was een voedsel te vinden, dat in alle opzichten volwaardig was, doch slechts nog even voldoende was om de eiwitbehoefte te dekken.

Als eiwitbron werd caseïne gekozen. Deze is in zuiveren toestand te verkrijgen en de albinorat groeit hierop goed.

Het is bekend, dat de caseïne een volwaardig eiwit is, waarbij de limiteerende factor van de cystine slechts een onbelangrijke rol speelt.

Uit voedingsproeven in het Laboratorium voor Physiologische Chemie te Amsterdam was reeds gebleken, dat de minimeiwitbehoefte moest liggen in de buurt van 6% caseïne.

De eerste voedsels, die wij samenstelden, hadden een caseïnegehalte van 4, 5, en 6 procent.

De voedsels hadden de volgende samenstelling:

	eiwit %	N 4	eiwit %	N 5	eiwit %	N 6	eiwit %
Caseïne	88.—	4	3.52	5	4.40	6	5.28
Amylum Oryzae . .	0.45	76	0.34	75	0.34	74	0.33
Levertraan.	—	1	—	1	—	1	—
Slaolie.	—	5	—	5	—	5	—
Zouten	—	4	—	4	—	4	—
Gedroogde biergist .	57.—	10	5.70	10	5.70	10	5.70
			9.56		10.44		11.31

Het zoutmengsel had de samenstelling, zooals deze in het Laboratorium voor Physiologische Chemie te Amsterdam gebruikelijk is:

CaCO ₃	20 gram
MgCO ₃	4 gram
Na ₂ HPO ₄	10 gram
NaCl.	4 gram
KCl	12 gram
totaal	50 gram

Aan 49 KG. hiervan wordt 1100 gram zoogenaamde „extra zouten” toegevoegd van de volgende samenstelling:

FeSO ₄ 7 aq.	500 gram
Na ₂ Si ₂ O ₄ 2 aq.	500 gram
Aluin.	350 gram
ZnSO ₄ 7 aq.	200 gram
CuSO ₄ 5 aq.	30 gram
MnSO ₄ 4 aq.	30 gram
NiSO ₄ 7 aq.	10 gram
CoSO ₄ 7 aq.	5 gram
Br.	25 gram
KJ.	0.5 gram
NaF	10 gram
As ₂ O ₃	0.25 gram
Borax	5 gram
Na molybdaat 2 aq.	5 gram

Dit mengsel wordt verhit op 100° C, totdat al het water uitgedampt is en daarna aan het gewone zoutmengsel toegevoegd.

Van de voedingsmiddelen werd het stikstofgehalte bepaald volgens de micro-Kjeldahl-methode. Als controle werd een enkele bepaling in de bereide voedsels uitgevoerd.

Na omrekening werd in de voedsels een eiwitgehalte gevonden van resp. 9.56%, 10.44% en 11.31%.

Deze voedsels, genaamd N 4, N 5 en N 6, werden gedurende vier weken in ongelimiteerde hoeveelheid aan drie proefdierreeksen gegeven, ieder bestaande uit zes proefdieren.

Door geregelde weging werd de gewichtstoename bepaald.

Met deze drie voedsels werden de volgende groeieresultaten bereikt:

voedsel	gewichtstoename in 4 weken
N 4	47.83 ± 6.51 gram
N 5	51.50 ± 3.25 gram
N 6	57.67 ± 4.70 gram

Oppervlakkig bezien, is er een regelmatige stijging van de gewichtstoename bij verhooging van het caseïnegehalte van het voedsel. Voor onze proeven is dit niet voldoende, hiervoor moet een betere groei ook statistisch zijn aan te toonen, wil het verschil in groei een bruikbare maatstaf zijn.

Bij statistische bewerking bleek het verschil in gewichtstoename op voedsel N 4 en voedsel N 6 niet significant te zijn, nl. 9.84 ± 8.03 gram in vier weken.

Daar het verschil niet meer dan tweemaal zoo groot is als zijn standaardfout, mag hieraan geen significantie worden toegekend. Nauwkeurig berekend volgens de tabel voor t van Fisher bestaat er 20 tot 30 procent kans, dat dit verschil op toeval berust. We nemen bij den groei op deze drie voedsels een regelmatige stijging van de gewichtstoename waar. De mogelijkheid is dus niet uitgesloten, dat een significante correlatie is aan te toonen. De correlatiecoëfficiënt tusschen caseïnegehalte en gewichtstoename bedraagt 0.984. Hoewel deze coëfficiënt zeer hoog is, blijkt uit de tabel V.A.

van Fisher, dat de kans, dat deze correlatie op toeval berust, iets grooter is dan 10%, hetgeen dus niet significant is.

De groei op de voedsels N 4 tot N 6 is voor de ratten, welke wij gebruikten, vrijwel normaal te noemen.

Verhooging van het caseïnegehalte tot 8% (N 8) blijkt dan ook geen noemenswaardige verbetering in groei te geven.

In twee nieuwe reeksen van 6 proefdieren, waarvan de groei iets minder bleek te zijn, werd tusschen de voedsels N 6 en N 8 een gemiddeld groeiverschil gevonden van 2.83 ± 3.866 gram.

Volgens tabel t berust dit verschil voor meer dan 50% op toeval en is dus niet significant.

Op grond van de verkregen resultaten kon nog niet met zekerheid het eiwitminimum worden vastgesteld.

Naar alle waarschijnlijkheid zal dit minimum gezocht moeten worden bij een lager eiwitgehalte.

Verlaging van het eiwitgehalte kan op twee manieren bereikt worden. In de eerste plaats kan de caseïne geheel uit het voedsel worden weggelaten, waarbij dan de gedroogde biergist als voornaamste eiwitbron dient. Het eiwitgehalte van de gist is niet gering. Bepaald volgens de micro-Kjeldahl-methode, bleek de gist 57% eiwit te bevatten. Als de proteïnen van de gist volwaardig blijken te zijn, kan volstaan worden met uitsluitend gist als eiwitbron te nemen.

Te dien einde worden twee voedsels samengesteld, met 10 en 15% gedroogde biergist, zonder caseïnetoevoeging.

In de tweede plaats kan het eiwitgehalte verminderd worden door het gisteiwit zooveel mogelijk te elimineeren. Dit kan bereikt worden met behulp van een waterig gistextract, dat op de volgende wijze bereid wordt.

1 KG. gedroogde biergist wordt gemengd met 7 liter water. Dit mengsel wordt aangezuurd met zoutzuur tot een duidelijk zure reactie op lakmoes en een half uur lang geroerd. Nadat men dit 12 uur heeft laten bezinken, kan ongeveer 4000 cm³ extract worden afgeheveld.

Het sediment wordt op dezelfde wijze nog twee keer uit-

geloofd. Het bijeengezamelde dunne extract wordt ingedampt bij ten hoogste 50° C. Na centrifugeeren wordt de thans donkerbruine, heldere vloeistof aangevuld tot 1 liter.

1 cm³ van deze vloeistof komt overeen met 1 gr biergist.

Het extract is onder toluol en in het donker geruimen tijd houdbaar.

Het stikstofgehalte van dit extract bedraagt 2.15% (micro-Kjeldahl-bepaling). Na omrekening vinden wij een gehalte van 13.5% eiwit.

Het extract laat zich zeer goed mengen met de poedervormige bestanddeelen van het voedsel. Toevoeging van 10% extract geeft nog een goed bereidbaar poedervormig voedsel.

Daar gebleken was, dat het eiwitgehalte van de rijstamylum vrij hoog was, werd de helft hiervan vervangen door poedersuiker. Als eiwitbron werd aan het voedsel met gistextract 4% caseïne toegevoegd.

De nieuwe voedsels werden genoemd ZP, ZS en ZR.

De samenstelling was aldus:

VOEDSELS ZP, ZS, ZR

	eiwit %	ZP	eiwit %	ZS	eiwit %	ZR	eiwit %
Caseïne	88.—	—	—	—	—	4	3.52
Amylum Oryzae .	0.45	80	0.36	75	0.34	43	0.19
Suiker	—	—	—	—	—	43	—
Levertraan . . .	—	1	—	1	—	1	—
Slaolie	—	5	—	5	—	5	—
Zouten	—	4	—	4	—	4	—
Gedroogde gist .	57.—	10	5.70	15	8.55	—	—
Gist extract . . .	13.5	—	—	—	—	10 cm ³	1.35
			6.06		8.89		5.06

Het eiwitgehalte van deze voedsels is laag, nl. 6.06%, 8.89% en 5.06%. Dit lage eiwitgehalte doet verwachten, dat het eiwitgehalte onder het eiwitminimum ligt, waardoor de groei hierop onvoldoende zal zijn.

Drie reeksen van ieder zes proefdieren werden gedurende drie weken op deze voedsels gehouden. Door voortijdig sterven van één van de dieren uit de reeks op voedsel ZR werd het aantal dieren in deze reeks tot vijf terug gebracht.

De groeieresultaten in drie weken waren aldus:

Voedsel	No.	Toename per week	Totaal in 3 weken
ZP	8411	-2 4 2	4
	8412	0 4 2	6
	8419	0 3 2	5
	8420	0 3 4	7
	8417	1 4 0	5
	8425	3 2 0	5
ZS	8415	5 7 7	19
	8416	2 5 5	12
	8422	6 6 6	18
	8424	5 5 6	16
	8427	6 8 5	19
	8428	9 5 7	21
ZR	8413	4 4 4	12
	8414	1 4 3	8
	8421	2 7 2	11
	8423	4 4 2	10
	8426	3 5 0	8

Gewichtstoename in drie weken:

ZP	5.33 $\pm$ 0.53 gram
ZS	17.50 $\pm$ 1.28 gram
ZR	9.80 $\pm$ 0.80 gram

Uit deze tabellen blijkt het volgende:

De groei van alle dieren is onvoldoende. Tusschen de gewichtstoename op ZP en ZS is een groot verschil waar te nemen. Dit verschil is statistisch hoogst significant (P kleiner dan 0.01). Bij het aanzienlijke verschil in eiwitgehalte behoeft dit geen verwondering te wekken.

Echter zien we, dat de proefdieren op voedsel ZR beter groeien dan op voedsel ZP, hoewel het eiwitgehalte van ZR kleiner is dan dat van voedsel ZP.

Het verschil in groei is zelfs statistisch hoogst significant! De gevolgtrekking, die wij hieruit kunnen maken is deze, dat de eiwitten van voedsel ZP (gisteiwitten) minderwaardig zijn vergeleken bij die van voedsel ZR (caseïne-eiwit).

Daar het gewenscht is, een voedsel te gebruiken, dat voldoende eiwitstoffen bevat, wordt het voedsel ZR voor de verdere proeven als standaardvoedsel genomen.

Wij zagen hierboven, dat het voedsel ZR met 4% caseïne een onvoldoenden groei geeft. Het eiwitgehalte ligt kennelijk onder het minimum. In de volgende proefneming zochten wij naar dat caseïnegehalte, dat nog net een vrijwel voldoende groei waarborgt.

Hiervoor werden ZR-voedsels samengesteld met 7, 8 en 10% caseïne. Deze voedsels noemden wij ZR 7, ZR 8, en ZR 10.

Dezelfde proefdieren, welke gebruikt werden voor de voedsels ZP, ZR en ZS, konden door hun gering lichaamsgewicht gebruikt worden voor de voedsels ZR 7, ZR 8 en ZR 10.

In drie weken was de gewichtstoename op deze voedsels aldus:

ZR 7	20.67 $\pm$ 1.20 gram
ZR 8	26.50 $\pm$ 4.49 gram
ZR 10	38.00 $\pm$ 1.78 gram

Door den onregelmatigen groei in de groep op voedsel ZR 8 is geen statistisch significant verschil in groei tusschen ZR 8 en ZR 7 en tusschen ZR 8 en ZR 10 aan te toonen. Het verschil in groei op voedsel ZR 7 en ZR 10 is echter hoogst significant.

Er blijkt een hoogst significante correlatie te bestaan tusschen het caseïnegehalte van de voedsels en de gewichtstoename van de proefdieren.

De groei op voedsel ZR 10 is niet optimaal. Verhoging van het eiwitgehalte gaf echter geen verbetering van den groei, zoodat aangenomen kan worden, dat het eiwitgehalte reeds boven het minimum moet zijn gelegen.

Voedsel ZR 7 geeft een iets onvoldoenden groei. Het eiwitgehalte hiervan ligt waarschijnlijk even onder het minimum. De vraag is echter, of de groeibeperkende werking van ZR 7 aan het totale eiwitgehalte of aan een enkelen limiteerenden factor moet worden toegeschreven. Deze limiteerende factor zou dan een enkel aminozuur moeten zijn, dat in onvoldoende hoeveelheid in de caseïne aanwezig is.

Osborne en Mendel (25) geven aan, dat cystine de limiteerende factor voor caseïne is. Zij vonden een onvoldoenden groei op 9% caseïne. Na toevoeging van cystine in een hoeveelheid van 3% van de caseïne bereikten zij volwaardigen groei. Ook Sherman en Woods (26) vonden groeiverbetering door toevoeging van cystine.

Wij hebben getracht den groei op de ZR-voedsels te verbeteren door toevoeging van cystine. Evenals Osborne en Mendel mengden wij cystine door de voedsels in een hoeveelheid van 3% van de caseïne. Voor voedsel ZR 8 kon hiervan geen groeibevorderende werking worden waargenomen. Evenmin was dit mogelijk voor ZR 7 en ZR 10.

White en Beach (27) wezen methionine aan als limiteerenden factor voor caseïne. Gezien den hoogen prijs van methionine en de negatieve resultaten met cystine, meenden wij te kunnen afzien van een proef met methionine.

Met zekerheid kan dus worden gezegd, dat de groeibeperkende werking van voedsel ZR 7 veroorzaakt wordt door een geringe eiwitdeficientie. Wil het voedsel voor de verdere proefnemingen bruikbaar zijn, dan moet het in alle andere opzichten volwaardig zijn.

Het leek doeltreffend, de volwaardigheid van voedsel ZR 7 te toetsen aan de mogelijkheid op dit voedsel de proefdieren te kweken.

Hiertoe werden de wijfjes 8414, 8421 en 8423, welke alle van het begin af gevoed waren met ZR-voedsels, samengebracht met de mannetjes 8426, 8427 en 8428.

Na 19 dagen bleek No. 8421 zwanger te zijn. Het dier werd geïsoleerd in een kweekkooi. Na twee dagen werd het traag, at aanvankelijk zeer veel, weigerde daarna alle voedsel en stierf den volgenden dag. Convulsies werden niet waargenomen.

Uit het obductieverslag is het volgende op te merken: longen, hart, milt en nieren geheel normaal; de lever is vergroot en vettig gedegenereerd; de baarmoeder bevat *zeven* goed ontwikkelde, bijna voldragen foetus, welke niet gemacereerd zijn; placentae alle normaal.

22 dagen na het begin van de kweekproef schenen de dieren 8414 en 8423 zwanger te zijn. Zij werden voorloopig niet geïsoleerd. 26 dagen na het begin werd 8423 dood gevonden. Bij obductie bleek het dier goed gevoed te zijn, met flinke ontwikkeling van het peritoneaal vetweefsel. De lever was vergroot en vettig gedegenereerd. De uterus bevatte *zeven* foetus, alle goed ontwikkeld, bijna voldragen en niet gemacereerd. Placentae alle normaal.

Rat 8414 bleef voorloopig in leven, vertoonde wel zwangerschapsteekenen, doch tot een bevalling kwam het niet. 45 dagen na het begin werd het dier dood in de kooi gevonden. De obductiebevindingen waren dezelfde, behalve dat de lever thans normaal van grootte was en niet vettig gedegenereerd. De uterus bevatte zes normale foetus, welke niet gemacereerd waren.

Het blijkt dus, dat het voedsel ZR 7 deficient is aan vitamine E. Immers bevruchting is mogelijk, voleindigen van de dracht niet.

Voor de verdere proefnemingen werd ZR 7 als het meest geschikte voedsel gekozen.

2. Samenstelling van de voedingszouten.

Het zuur-base-evenwicht werd in onze proeven verschoven door het toevoegen van verschillende voedingszouten.

Daar de overige voedselbestanddeelen zeer arm aan mineralen zijn, moeten de voedingszouten dus alle mineralen bevatten, welke noodig zijn voor het welzijn en een ongestoorden groei van de proefdieren, ook op langeren termijn.

Voor die elementen, welke slechts in sporen in de voeding noodig zijn, werd wederom gebruik gemaakt van het reeds eerder genoemde zoutmengsel.

De elementen Na, K, Ca, Mg, P en Cl waren in meer dan voldoende mate aanwezig.

Zorg werd gedragen, dat de verhouding Ca : P in deze mengsels steeds 1 : 1 was.

Voor de zuurvormende zouten werd het volgende mengsel samengesteld:

		Na	K	Ca	Mg	P	Cl
CaHPO ₄	100			29.4		22.8	
KH ₂ PO ₄	100		28.7			22.8	
CaCl ₂	50			18.0			32.0
NH ₄ Cl	100						66.4
NaCl	50	19.7					30.3
MgCO ₃	20				5.8		
Na-citraat	10	2.7					
Gemengde zouten . .	10						
	440	22.4	28.7	47.4	5.8	45.6	128.7

Aan het alcalivormende zoutmengsel gaven wij de volgende samenstelling:

		Na	K	Ca	Mg	P	Cl
CaHPO ₄	100			2.94		22.8	
Na ₂ HPO ₄	30	9.7				6.5	
Na ₂ CO ₃	120	52.1					
K ₂ CO ₃	100		56.5				
NaCl	50	19.7					30.3
MgCO ₃	20				5.8		
Na-citraat	10	2.7					
Gemengde zouten . .	10						
	440	84.2	56.5	29.4	5.8	29.3	30.3

Wij berekenden volgens R a g n a r B e r g (9) de zuur- en baseaequivalenten in de voedingszouten. In navolging van B e r g werd aangenomen, dat de fosfor in driebasischen vorm wordt uitgescheiden, hoewel dit slechts voor een zeer klein deel plaats vindt, en het meerendeel in twee- en éénbasischen vorm in de urine wordt teruggevonden. De berekening, welke

B e r g volgt is zeer willekeurig en slechts gebaseerd op een dogma.

Het berekende overschot aan zuur- en baseaequivalenten is per 440 gram zoutmengsel voor het
zuurvormende zoutmengsel 3.546 aeq. zuur
basevormende zoutmengsel 3.358 aeq. base.

Nemen wij aan, dat een albinorat per dag 10 gram voedsel tot zich neemt, dan houdt dit in een gebruik van 3.546 milliaequivalenten zuur, of 3.358 milliaequivalenten baseoverschot.

Onze eigen proeven waren niet gebaseerd op de uitsluitende berekening van de aequivalenten, doch wij lieten steeds de reactie van de urine als criterium gelden voor de zuur- of basewerking van een gebruikt zoutmengsel.

3. Gewichtstoename met zuur- en basevormende zoutmengsels.

Aan het voedsel ZR 7 werd in plaats van het tot nu toe gebezigde zoutmengsel een gehalte van 4.4% zuur- of basevormend zoutmengsel toegevoegd. Deze voedsels werden gegeven aan twee dierreeksen van ieder 10 jonge albinoratten.

De aldus samengestelde voedsels werden even gretig gegeten als de vorige. Aangenomen kan dus worden, dat de proefdieren geen duidelijke voorkeur voor eenig zoutmengsel hadden. Alle dieren bleven een welvarenden indruk maken.

Slechts valt op, dat de reeks met basisch zoutmengsel een geringe mate van vroegtijdige mortaliteit vertoont. Hierdoor werd deze reeks tot 8 dieren verminderd. Bij obductie van de gestorven dieren kon geen oorzaak voor den dood worden vastgesteld.

In den loop van de proefneming werden gedurig pH-metingen in de urine verricht.

Na 4 weken kon een vergelijking gemaakt worden tusschen de twee dierreeksen.

De verkregen groeiresultaten waren aldus:

Voedsel	No.	Gewicht	Toename in 4 weken	pH. urine
ZR 7 Zuur	8887	34	33	5.2
	8890	37	41	5.1
	8874	37	58	5.3
	8880	39	46	5.2
	8885	35	47	5.1
	8881	25	44	5.1
	8882	33	26	4.9
	8884	39	42	5.3
	8993	32	38	—
	8994	32	49	—
ZR 7 Alcalisch	8876	34	56	8.0
	8889	32	35	7.5
	8991	29	51	7.9
	8992	28	50	—
	8877	33	46	7.9
	8878	39	32	8.2
	8879	40	55	8.0
	8875	33	43	7.8

Gewichtstoename in 4 weken:

ZR 7 zuur: 42.4 ± 2.794 gram

ZR 7 base: 46.0 ± 3.125 gram

Hoewel de reeks op zuurvormend voedsel een enigszins lager gewicht bereikte dan de basische groep, is zelfs zonder verdere statistische berekening duidelijk, dat het verschil tussen de beide reeksen niet significant is.

De waarden voor de gemiddelde waterstofionenconcentratie zijn opgegeven in de vierde kolom van de tabel.

Hieruit blijkt, dat de zoutmengsels inderdaad een sterk zuur, resp. basischmakende werking hebben vertoond.

Bij basenoverschot is het gevonden gemiddelde pH. 7.9 ± 0.083 .

Bij zuuroverschot is pH. 5.15 ± 0.046 .

De strooiing rond het gemiddelde heeft een geringen uit-

slag, waardoor tusschen deze waarden een significant verschil blijkt te bestaan.

Een statistisch verschil tusschen de reeksen op voedsels met zuur- en basenoverschot was in deze proef niet aan te toonen. De zuur- en basewerking wordt gecontroleerd aan de pH. van de urine. De mogelijkheid kan dus bestaan, dat een correlatie tusschen groei en pH. van de urine is aan te toonen.

De correlatiecoëfficiënt tusschen groei en pH. werd berekend in de twee samengevoegde reeksen.

Gevonden werd een correlatiecoëfficiënt van 0.0974.

Bij de significantieberekening bleek dat deze in 72% van de gevallen op toeval kon berusten en was dus geenszins significant.

De voedingsproef werd gedurende elf weken voortgezet. Ook gedurende deze langere periode kon geen verschil van eenige betekenis worden aangetoond.

Het verschil in groei op de voedsels ZR 7 met zuur- en basenoverschot was statistisch niet aan te toonen. Dit wil niet zeggen, dat in werkelijkheid geen verschil bestaat. Het zegt slechts, dat uit het onderzochte materiaal geen verschil was aan te toonen. Besloten werd, dezelfde proef in iets uitgebreider vorm nog eens te herhalen. De uitbreiding bestond daarin, dat een derde reeks werd toegevoegd, welke gevoed werd met voedsel ZR 7 met het in het Laboratorium steeds gebruikte zoutmengsel.

Drie nieuwe reeksen van ieder zes proefdieren werden op dezelfde wijze behandeld als in de voorgaande proef. Door vroegtijdig sterven van één van de dieren uit de zuurreeks werd deze reeks met vijf dieren voortgezet.

De gemeten zuurgraad van de urine vertoonde ook nu weer hoogst significante verschillen.

Gemiddelde zuurgraad van de urine:

Zuurvormende zouten pH. 5.13 ± 0.061

„Neutrale” zouten „ 6.00 ± 0.132

Basische zouten „ 7.94 ± 0.068

Ook in deze proef heeft de gewichtstoename van de dieren

een regelmatig verloop. De gewichtstoename in vier weken wordt in de volgende tabel weergegeven.

Voedsel	No.	Gewicht	Toename 4 weken	pH.
<i>Neutraal</i>	9826	37	30	6.3
	9833	25	25	6.2
	9834	33	25	6.1
	9835	30	27	5.5
	9828	34	47	6.2
	9832	28	26	5.7
<i>Zuur</i>	9829	39	30	5.1
	9840	32	26	5.1
	9842	30	26	5.2
	9843	30	27	5.4
	9830	33	42	5.0
<i>Alcalisch</i>	9827	35	42	7.7
	9836	31	37	7.9
	9839	29	28	—
	9838	30	32	8.1
	9837	28	38	8.0
	9831	38	45	8.0

De gemiddelde groei is voor de drie reeksen de volgende:

Zuurvormende zouten	30.2 ± 3.04 gram
„Neutrale” zouten	30.0 ± 3.48 gram
Basische zouten	37.0 ± 2.56 gram

Het verschil tusschen de zuur- en basereeks is ook nu in verhouding tot de standaardfout gering. Statistisch bestaat tusschen de 10 en 20% kans, dat dit verschil op toeval berust. Het verschil tusschen deze twee reeksen mag dus niet als significant worden aangemerkt.

Anders wordt het, als de groei vergeleken wordt met den zuurgraad van de urine.

In de volgende tabel is de berekening van den correlatie-

coëfficiënt tusschen groei en pH. van de urine uitgebreid weergegeven.

No.	Gewichts- toename	Deviatie gewicht		pH. urine	Deviatie pH.		Product	
		—	+		—	+	—	+
9826	30	— 3	9	6.3	0.0	0.00	0.0	0.0
9833	25	— 8	64	6.2	—0.1	0.01		0.8
9834	25	— 8	64	6.1	—0.2	0.04		1.6
9835	27	— 6	36	5.5	—0.8	0.64		4.8
9828	47	+14	196	6.2	—0.1	0.01	1.4	
9832	26	— 7	49	5.7	—0.6	0.36		4.2
9829	30	— 3	9	5.1	—1.2	1.44		3.6
9840	26	— 7	49	5.1	—1.2	1.44		8.4
9842	26	— 7	49	5.2	—1.1	1.21		7.7
9843	27	— 6	36	5.4	—0.9	0.81		5.4
9830	42	+ 9	81	5.0	—1.3	1.69	11.7	
9827	42	+ 9	81	7.7	+1.4	1.96		12.6
9836	37	+ 4	16	7.9	+1.6	2.56		6.4
9838	32	— 1	1	8.1	+1.8	3.24	1.8	
9837	38	+ 5	25	8.0	+1.7	2.89		8.5
9831	45	+12	144	8.0	+1.7	2.89		20.4
Gem. 32.8		— 3	909	Gem. 6.34	+0.7	21.19	—14.9	+84.4

correctie —0.56

$S(x^2)$ 908.44

correctie —0.03

$S(y^2)$ 21.16

correctie + 0.13

$S(xy)$ +69.63

$$r = \frac{S(xy)}{\sqrt{S(x^2) \cdot S(y^2)}} = 0.5021$$

$$n = n' - 2 = 14$$

$$t = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \cdot \sqrt{n'-2} = 2.1955 \quad P < 0.05$$

$$t = 2.624 \quad P = 0.02$$

$$t = 2.145 \quad P = 0.05$$

De gevonden correlatiecoëfficiënt bedraagt 0.5021 ± 0.2287 .

In de tabel voor t vinden wij:

$$n = 14, t = 2.624, P = 0.02$$

$$n = 14, t = 2.145, P = 0.05.$$

De gevonden waarde voor t (2.1955) ligt dus tusschen de 2 en 5 procent, is dus *significant*.

Hiermede is het bestaan van een correlatie tusschen groei en pH. van de urine zeer waarschijnlijk geworden.

Welke beteekenis heeft deze correlatie?

Zij is opgebouwd uit twee wederkerige regressiefactoren:

a. De regressie van groei op pH.

b. De regressie van pH. op groei.

Dit wil dus zeggen:

a. Verandering in den zuurgraad van de urine heeft een hiervan afhankelijke verandering in den groei tengevolge.

b. Verandering in den groei heeft verandering in den zuurgraad van de urine tengevolge.

Te verwachten is, dat regressie a. de belangrijkste zal blijken te zijn.

Beide regressiefactoren werden berekend.

De gevonden coëfficiënten waren als volgt:

a. Regressiecoëfficiënt van

$$\text{groei op pH. : } 4.370 \pm 1.304$$

$$\text{significantiefactor } P < 0.01$$

b. Regressiecoëfficiënt van

$$\text{pH. op groei: } 0.0557 \pm 0.038$$

$$\text{significantiefactor } P > 0.10$$

Hieruit blijkt, dat de correlatiecoëfficiënt zijn significantie ontleent aan de regressie van groei op pH. van de urine.

De gevonden regressiecoëfficiënt van groei op pH. van de urine bewijst nog geenszins, dat een verandering in den zuur-

graad van de urine invloed uitoefent op de stikstof-stofwisseling. Daartoe moeten alle andere factoren, welke eveneens den groei kunnen beïnvloeden, worden uitgeschakeld.

Als mogelijke factoren kunnen worden genoemd:

a. De smaak van de zuur- of basevormende zouten kan van invloed zijn op het voedselgebruik. Zou dit het geval zijn, dan zou bij ieder ander voedsel een even groot verschil in groei moeten worden waargenomen tusschen de twee voedingszouten. Een dergelijke proef werd genomen. Inplaats van met neutrale zouten werd het vrijwel volwaardige voedsel N 7 gemengd met zuur- en basevormende zouten. Gedurende 11 weken werden deze voedsels gegeven aan twee dierreeksen.

De gewichtstoename op dit voedsel N 7 in 11 weken was:

$$\text{zuurvormende zouten: } 111.75 \pm 10.18 \text{ gram}$$

$$\text{basevormende zouten: } 124.0 \pm 14.35 \text{ gram}$$

Van een verschil van eenige beteekenis is hierbij geen sprake. Bovendien werden in geen van beide reeksen ziekten waargenomen.

b. Door verhoogde diurese van de zuurvormende zouten kan het lichaamsgewicht van de met zuur gevoede dieren verlaagd worden. De diurese werd gemeten aan eenige dieren in stofwisselingskooien. De geloosde urine wordt hierin gescheiden van de faeces opgevangen. Geen verschil kon worden waargenomen tusschen de hoeveelheden urine van met zuur of basisch gevoede dieren. In geen van beide groepen werden pathologische urines gevonden, zoodat hiermede nierbeschadiging door overmaat zuur of base tevens kan worden uitgesloten.

c. Het gewichtsverschil zou kunnen worden veroorzaakt door verschil in vochtgehalte van de weefsels. Van eenige proefdieren werd na afloop van de voedingsproef het watergehalte bepaald.

Deze bepaling moet zoo snel mogelijk worden uitgevoerd om ontbinding te voorkomen. Een snelle uitdroging wordt verkregen door de dieren na dooden met chlooroform geheel te verpulveren. Men laat ze daartoe bevriezen met vloeibare lucht en maalt ze in bevroren toestand fijn. Het op deze wijze verkregen poeder kan in de droogstoof snel worden ge-

droogd. Door weging voor en na het drogen wordt het watergehalte berekend.

Van twee dieren, één met zuur, het andere met basisch zoutmengsel gevoed, werd op deze wijze het watergehalte bepaald:

rat 8878 (zuurvormend zoutmengsel) 58% water.

rat 8881 (basevormend zoutmengsel) 63% water.

Deze cijfers liggen binnen de normale grenzen van het vochtgehalte en vertoonen te weinig verschil om hieraan betekenis toe te kennen.

Aangenomen kan dus worden, dat de gevonden regressie van groei op zuurgraad van de urine inderdaad haar oorzaak vindt in den invloed, dien het zuur- of basenoverschot in de voeding op de eiwitstofwisseling uitoefent.

Rest ons thans te bepalen, hoe groot de gevonden invloed is.

De regressiecoëfficiënt van groei op pH. van de urine is 4.37 ± 1.304 . Dat wil zeggen, dat bij stijging van de waterstofionen-concentratie in de urine met één eenheid de groeiwinst in vier weken 4.37 ± 1.304 gram bedraagt. Met 95% zekerheid ligt deze waarde tusschen de 1.76 gram en 6.98 gram.

Uitgedrukt in percenten van den gemiddelden groei (33 gram in 4 weken) beteekent dit een gewichtswinst van 5 tot 21 percent (gemiddeld 13%).

Wij hebben getracht, een vergelijking te maken tusschen de groeiwinst, welke verkregen wordt door verhooging van den zuurgraad van de urine en de winst, welke verkregen wordt door verhooging van het caseïnegehalte van het voedsel.

In de proefdierreeks ZR 7 met „neutrale” zouten werd tusschen groei en caseïnegehalte de regressiecoëfficiënt van groei op caseïne bepaald. Deze regressiecoëfficiënt is hoogst significant en bedraagt 6.273 ± 1.676 . Dit wil zeggen, dat verhooging van het caseïnegehalte met 1 gram per 100 gram voedsel, in drie weken een verhooging in den groei teweegbrengt van gemiddeld 6.273 gram.

Bij vergelijking van de groeiwinst, welke verkregen werd

door verhooging van de pH. in de urine en die, welke verkregen werd door verhooging van het caseïnegehalte van het voedsel, bleek, dat verhooging van de pH. met één eenheid gelijk te stellen is met toevoeging van ongeveer $\frac{1}{2}$ gram caseïne per 100 gram voedsel, d.i. 6.4% van het caseïnegehalte.

Doordat beide regressiecoëfficiënten een tamelijk groote standaardfout vertoonen, mag aan deze cijfers geen te groote betekenis worden gehecht. Berekend kan worden, dat met 95% zekerheid deze waarde ligt tusschen de 0.14 gram en 1.79 gram caseïne per 100 gram voedsel.

CONCLUSIE

Het eigen onderzoek op jonge albinoratten toonde aan, dat door het verschuiven van het zuur-base-evenwicht in de voeding invloed is uit te oefenen op de eiwitstofwisseling.

Deze invloed kon slechts aangetoond worden, als de proefdieren gevoed werden met een hoeveelheid eiwit, welke de minimumlevensbehoefte benaderde.

Verschuiving van het zuur-base-evenwicht in de voeding naar den basischen kant gaf in dit geval eenige verbetering in den groei van de proefdieren, welke verbetering moest worden toegeschreven aan een eiwitsparende werking.

Bij rijkelijke eiwitvoeding kon geen invloed van een verandering in het zuur-base-evenwicht op de eiwitstofwisseling worden aangetoond.

Verschuiving van het evenwicht naar zuren of basischen kant gedurende een belangrijk deel van een rattenleeftijd leidde niet tot orgaanbeschadiging of verlaging van den weerstand van het organisme tegen schadelijke invloeden.

Daar R. Berg c.s. voor den mensch eveneens door een basenrijke voeding eenige verbetering in de eiwitstofwisseling waarnam, kan aangenomen worden, dat het resultaat van ons eigen onderzoek ook voor de menschelijke voeding geldt.

Hieruit mag echter nog niet worden besloten tot het instellen van voedingsvoorschriften, zooals R. Berg die wenscht. Immers, een gunstige invloed kon door het eigen onderzoek zoowel als door de school van Berg slechts worden aangetoond, als het eiwitgehalte van de voeding terug werd gebracht tot de minimumlevensbehoefte. Dit minimum ligt ver beneden de hoeveelheid, welke de mensch bij vrije voedselkeuze dagelijks tot zich neemt. Daar bij rijkelijke eiwitvoeding geen verbetering door basenrijke voeding kon worden aangetoond, mag aangenomen worden, dat bij vrije, onbeperkte voedselkeuze geen bijzondere zorg behoeft te worden besteed aan het basengehalte van de voeding.

Slechts in tijden, waarin de voedselvoorziening grootere moeilijkheden gaat opleveren, hetzij door algemeene verarming van de bevolking, hetzij door voedselschaarschte, kan het eiwitgehalte van de voeding de minimumbehoefte in bedenkelijke mate benaderen. Op grond van het voorgaande onderzoek mag men aannemen, dat het basenoverschot in de voeding in dit geval van belang wordt.

Echter mag verwacht worden, dat dan ook de voorziening met een voldoende hoeveelheid vitamine C. zorgen gaat baren.

In geen geval mogen dus, ter verhooging van het basenoverschot, alcalische zouten worden toegevoegd aan die spijsen, welke bij de bereiding gekookt worden.

Door een juiste keuze van die voedingsmiddelen, welke naast een redelijk gehalte aan vitaminen een natuurlijk overschot aan basen bevatten, kan een dreigende eiwitdeficientie worden voorkomen of uitgesteld.

Rijkelijke voeding met aardappelen lijkt ons hiertoe het meest geëigend.

SAMENVATTING

In de literatuur werd geen eensluidende meening gevonden ten opzichte van den invloed, welke het zuur-base-evenwicht uitoefent op de stikstof-stofwisseling. Mc. Collum en Hoagland, Carl Röse, R. Berg, Birkner e.a. vonden een verbetering van de stikstofbalans bij een voeding, welke een overschot aan basen bevat. Daartegenover staat een groot aantal onderzoekers, welke geen invloed van het zuur-base-evenwicht konden aantoonen.

Getracht werd, den oorsprong van deze tegenstelling op te sporen. Het verschil in inzicht moet gezocht worden in de verschillende doelstelling en wijze van proefneming van de onderzoekers. Degenen, die hun onderzoekingen verrichtten bij eiwitarme voeding, konden een verbetering van de stikstofbalans door een basenrijke voeding aantoonen. Zij, die werkten met rijkelijke eiwittoediening, vonden in het algemeen geen verbetering door verhooging van het basengehalte. Wij achtten een nader onderzoek gewenscht om twee redenen. In de eerste plaats diende uitgemaakt te worden of inderdaad een invloed van het zuur-base-evenwicht op de eiwitstofwisseling was aan te toonen. In de tweede plaats moest de waarde onderzocht worden van het voedingsdogma, zooals dit werd opgesteld door de school van R. Berg. Berg is van meening, dat niet zoozeer de eiwitsparende werking op zichzelf van zooveel belang is, doch dat een voeding met een zuuroverschot, of met een te gering basenoverschot, een onvolledige eiwitafbraak geeft. Hierdoor zouden tusschenproducten, „eiwitlakken” ontstaan, welke een nadeeligen invloed op het organisme uitoefenen.

Betreurd moet worden, dat de door Berg c.s. gepubliceerde gegevens niet door statistische bewerking werden gecontroleerd, terwijl het cijfermateriaal van deze publicaties zich in de meeste gevallen ook niet daartoe leent.

Op grond van deze literatuurstudie rees het vermoeden, dat een invloed op de stikstof-stofwisseling zou zijn aan te toonen, als gewerkt werd bij eiwitminimum in de voeding. Wij stelden de voorwaarden op, waaraan een betrouwbare proefneming moet voldoen.

Het eigen onderzoek werd verricht op albinoratten. Zij kregen een basisvoedsel, dat de minimeiwitbehoefte ongeveer dekte. Het voedsel bleek overigens geen deficiënties te vertoonen, welke voor een betrouwbaar onderzoek van belang kunnen zijn. De verschuiving van het zuur-base-evenwicht werd verkregen door toevoeging van verschillende zoutmengsels. Deze zoutmengsels bevatten alle elementen, welke voor het organisme nodig kunnen worden geacht. De voedsels werden gedurende een voor de rat vrij lange levensperiode toegediend. De invloed van de voedingszouten op de eiwitstofwisseling werd gecontroleerd door geregelde groeibepaling van de proefdieren. De verschuiving van het zuur-base-evenwicht werd gecontroleerd door bepaling van de waterstofionenconcentratie in de versch geloosde urine.

Zoowel voeding met zuur- als met basenoverschot verwekte geen ziekteverschijnselen. Bij de geobduceerde proefdieren konden geen belangrijke orgaanbeschadigingen worden gevonden. Een zuuroverschot bij normale eiwitvoeding oefent dus geen nadeeligen invloed op het organisme uit.

Het cijfermateriaal werd zooveel mogelijk statistisch bewerkt. Het bleek mogelijk, om een kleine verbetering van de eiwitstofwisseling door een overmaat van basen in de voeding aan te toonen. Deze verbetering kon statistisch als significant worden erkend. De gevonden invloed kon in cijfers worden uitgedrukt. Verhooging van de urine pH. met één eenheid gaf een verbetering in den groei, welke eveneens verkregen kon worden door het caseïnegehalte van het voedsel met ongeveer $\frac{1}{2}$ gram per 100 gram voedsel te verhoogden.

Zoals reeds vermoed werd, was de verbetering, welke verkregen werd door een basenrijkere voeding, alleen aan te toonen bij een voeding, welke de minimeiwitbehoefte ternauwernood dekte. Werd een ruimere eiwitvoeding gebruikt, dan was van een verbetering door basenoverschot niets meer te bespeuren. Vergelijking van de proefresultaten met

ratten met de resultaten, welke bij menschen werden verkregen, doen vermoeden, dat de gevonden invloed op de eiwitstofwisseling ook voor den mensch van gelding is.

Op grond van het eigen onderzoek en de bestudeerde literatuur wordt het in het algemeen voor den mensch niet noodig geacht, bijzondere aandacht aan het basengehalte van de voeding te besteden. Slechts, wanneer de voedselvoorziening zoo slecht zou worden, dat de minimumeiwitbehoefte bereikt wordt, kan het basenoverschot van de voeding van belang worden. Echter kan verwacht worden, dat dan ook de vitaminenverzorging moeilijkheden zal opleveren. In geen geval mag dan ook aanbevolen worden, ter verhooging van het basengehalte, alcalische zouten aan de te koken spijzen toe te voegen. Gestreefd zal dan dienen te worden naar een keuze van voedingsmiddelen, welke een natuurlijk basenoverschot bevatten.

SUMMARY

In literature no uniform opinion was found with respect to the influence which the acid-base-equilibrium exercises on nitrogenmetabolism.

Mc. Collum and Hoagland, Carl Röse, R. Berg, Birkner, a.o. found an improvement of the nitrogen-balance with a dietary which contains a surplus of bases. But then there is a great number of investigators who could show no influence of the acid-base-equilibrium.

Efforts were made to trace the origin of this contradiction.

The difference in insight must be found in the different aims and modes of experimentation of the investigators. Those who perform their examinations with nutrition poor in protein, could show an improvement of the nitrogen-balance through a nutrition rich in bases. Those working with copious administration of protein, generally found no improvement by raising the basic capacity.

We thought a closer examination desirable for two reasons. Firstly it ought to be settled whether indeed an influence of the acid-base-equilibrium on the nitrogenmetabolism was to be shown. Secondly the value had to be examined of the nutritiondogma as this was drawn up by the school of R. Berg. Berg is of opinion that not so much the proteinsaving action is of so much importance in itself, but that a nutrition with an acid-surplus or with too slight a base-surplus, gives an incomplete proteindecay. Through this intermediary products „protein-cinders” would arise which exercise a detrimental influence on the organism.

It is to be regretted that the data published by Berg and his co-operators were not controlled by statistical working, while the ciphermaterial of these publications in most cases does not lend itself to this either. On the ground of this study of literature the suspicion arose that an influence on the ni-

trogen-metabolism was to be shown, if we worked with protein-minimum in the nutrition.

We drew up the conditions to which a reliable experiment has to conform.

Our own examination was performed on albinorats. They got a basisfood covering about the need of minimum protein. The food did not appear to show any deficiencies apart from that, which may be of interest for a reliable investigation. The shifting of the acid-base-equilibrium was obtained by addition of various saltmixtures. These saltmixtures contain all the elements which may be thought necessary for the organism.

The foods were administered during a fairly long period of life for a rat. The influence of the nutrition salts on the protein-metabolism was controlled by regular location of growth of the experimental animals. The shifting of the acid-base-equilibrium was controlled by location of the hydrogenion-concentration in the freshly voided urine. Both nutrition with acid- and basessurplus roused no symptoms of disease. With the experimental animals of which an autopsy was made, no damage of any importance of the organs could be found. An acid surplus with normal protein nutrition consequently exercises no detrimental influence on the organism.

The data were worked out statistically as much as possible. It proved possible to show a small improvement of protein-metabolism through an excess of bases in the food. This improvement could statistically be acknowledged as significant. The influence found could be expressed in figures. Raising of the urine pH with one unit caused an improvement in growth which likewise could be obtained by increasing the amount of casein in the food by about $\frac{1}{2}$ Gram per 100 Grams of the food.

As was already supposed the improvement which was obtained by a nutrition richer in bases, was only to be shown in a nutrition which scarcely covered the need of minimum protein. When an ampler protein nutrition was used of an improvement by base-surplus nothing was to be perceived. Comparison of the results of the experiments with rats with the

results obtained with men, makes suspect that the influence found on protein metabolism also applies to man.

On the ground of own investigation and literature studied it is generally not thought necessary for man to pay special attention to the amount of bases in food. Only, if the food-supply should become so bad that the minimum need of protein is obtained, the base-surplus of nutrition may become important. However it may be expected that also then the provision of vitamins will cause difficulties. In no case it must be recommended for that matter to add alkaline salts to the food to be cooked in order to raise the base-amount. One should aim then at a selection of foodstuffs, containing a natural base-surplus.

ZUSAMMENFASSUNG

In der Literatur gibt es keine einheitliche Meinung über den Einfluss, welchen das Säure-Basengleichgewicht ausübt auf den Stickstoff-stoffwechsel. Mc. Collum und Hoagland, Carl Röse, R. Berg, Birkner u.a. stellten eine Verbesserung der Stickstoffbilanz fest bei einer Nahrung, welche einen Überschuss an Basen enthält. Dahingegen gibt es eine grosse Anzahl Untersucher, die keinen Einfluss auf das Säure-Basengleichgewicht nachweisen konnten.

Es wurde ein Versuch gemacht zu erforschen, wie dieser Gegensatz entstanden sei. Der Grund hierzu muss gesucht werden in der Verschiedenheit der Ziele und der Weise des Experimentierens der Untersucher. Diejenigen, die ihre Untersuchungen verrichteten bei eiweissarmer Nahrung konnten eine Verbesserung der Stickstoffbilanz durch eine basenreiche Nahrung nachweisen. Diejenigen, die mit eiweissreicher Nahrung arbeiteten, konnten im allgemeinen keine Verbesserung durch Erhöhung des Basengehalts nachweisen.

Eine nähere Untersuchung erschien mir aus zwei Gründen erwünscht. An erster Stelle sollte festgestellt werden, ob überhaupt ein Einfluss des Säure-Basengleichgewichts auf den Eiweissstoffwechsel nachzuweisen wäre. An zweiter Stelle sollte das Ernährungsdogma der R. Bergschen Schule einer näheren Prüfung unterzogen werden. Berg ist der Ansicht, dass nicht so sehr die eiweissersparende Wirkung an und für sich von so grosser Wichtigkeit ist, dass aber eine Nahrung mit Säureüberschuss oder mit einem zu geringen Basenüberschuss, einen unvollständigen Eiweisszerfall hervorruft. Hierdurch sollten Zwischenprodukte, „Einweisschlacken“ entstehen, welche einen nachteiligen Einfluss auf den Organismus ausüben.

Es ist zu bedauern, dass die von Berg und seinen Mitarbeitern veröffentlichten Angaben nicht durch statistische

Bearbeitung kontrolliert wurden, während das Ziffernmaterial sich in den meisten Fällen dazu auch nicht eignet.

Dieses Literaturstudium legte das Vermuten nahe, dass ein Einfluss auf den Stickstoff-stoffwechsel nachzuweisen wäre, wenn gearbeitet würde bei Eiweissminimum in der Nahrung. Wir stellten die Bedingungen auf, denen ein zuverlässiges Experiment genügen muss..

Die eigene Untersuchung wurde verrichtet mit Albinoratten. Sie bekamen eine Basisnahrung, welche den Minimum-eiweissbedarf nahezu deckte. Die Nahrung wies übrigens keine Defizienz auf, welche für eine zuverlässige Untersuchung von Bedeutung sein kann. Die Verschiebung des Säure-Basengleichgewichts wurde hervorgebracht durch Beifügung verschiedener Salzmischungen. Diese Salzmischungen enthielten alle Elemente, welche für den Organismus als erforderlich betrachtet werden können. Die Nahrungsquanten wurden während einer für die Ratte ziemlich langen Lebensperiode gegeben. Der Einfluss der Nahrungssalze auf den Eiweissstoffwechsel wurde kontrolliert durch regelmässiges Überwachen vom Wachstum der Probestiere.

Die Verschiebung des Säure-Basengleichgewichts wurde kontrolliert durch Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration in frisch gelassenem Urin.

Nahrung mit Säure- sowie mit Basenüberschuss rief keine Krankheitserscheinungen hervor. Bei den seziierten Probestieren liessen sich keine Organbeschädigungen feststellen.

Ein Säureüberschuss bei normaler Eiweissernährung übt also keinen nachteiligen Einfluss auf den Organismus aus.

Das Ziffernmaterial wurde soviel wie möglich statistisch bearbeitet. Es wurde eine kleine Verbesserung des Eiweissstoffwechsels durch ein Übermass an Basen in der Nahrung nachgewiesen. Diese Verbesserung konnte statistisch als significant anerkannt werden.

Der nachgewiesene Einfluss konnte in Ziffern ausgedrückt werden. Erhöhung des Urins pH mit einer Einheit rief eine Verbesserung im Wachstum hervor, welche gleichfalls erzielt werden konnte durch Erhöhung des Kaseingehalts der Nahrung mit ungefähr $\frac{1}{2}$ Gramm pro 100 Gramm Nahrung.

Wie sich vermuten liess, war die durch eine basenreichere

Nahrung erzielte Verbesserung nur nachzuweisen bei einer Nahrung, welche den Eiweissbedarf kaum deckte. Wurde eine reichlichere Eiweissernährung angewandt, so war von einer Verbesserung durch mehr Basen nichts mehr zu verspüren. Vergleichung der Proberesultate bei Ratten mit den bei Menschen erreichten Resultaten liessen vermuten, dass der festgestellte Einfluss auf den Eiweissstoffwechsel auch für den Menschen seine Geltung hat.

Auf Grund der eigenen Untersuchung und der studierten Literatur wird es im allgemeinen für den Menschen nicht notwendig erachtet auf den Basengehalt der Nahrung besondere Aufmerksamkeit zu verwenden. Nur wenn die Nahrungsmittelversorgung so schlecht werden sollte, dass der Minimum-eiweissbedarf erreicht wird, kann der Basenüberschuss der Nahrung seine Bedeutung haben. Es ist dann aber zu erwarten, dass auch die Vitaminversorgung Schwierigkeiten bietet. Auf keinen Fall lässt es sich empfehlen zur Erhöhung des Basengehalts den zu kochenden Speisen alkalische Salze beizufügen. Es soll dann eine Wahl von Lebensmitteln angestrebt werden, welche einen natürlichen Basenüberschuss enthalten.

LIJST DER GERAADPLEEGDE LITERATUUR

1. E. V. Mc. Collum & D. R. Hoagland. Jl. Biol. Chem. **16**, 298, '14.
2. H. C. Sherman & A. O. Gettler. Jl. Biol. Chem. **11**, 323, '12.
3. Labbé. Influence des sels alcalins sur l'élimination d'ammoniac.
4. E. V. Mc. Collum & Marg. Davis. Jl. Biol. Chem. **21**, 615, '15.
5. C. Röse & R. Berg. Münch. Med. Ws. 1918, 1011.
6. C. Röse. Pflügers Med. Arch. **160**, 511.
7. C. Röse. Zs. f. d. gesamte exper. Med. **94**, 579, '34.
8. C. Röse. Eiweissüberfütterung u. Basenunterernährung. Dresden 1915.
9. R. Berg. Kontr. der Mineralstoffwechsels.
10. R. Berg. Eiweissbedarf und Mineralstoffwechsel bei einfachster Ernährung. Leipzig 1931.
11. W. H. Jansen. Münch. Med. Ws. 1932.
12. W. H. Jansen. Zs. f. Klin. Med. **88**, 221, '19.
13. Fuhge. Arch. f. Kinderheilk. **67**, 291.
14. G. Baumgardt. Arch. f. Kinderheilk. **69**, 209, '21.
15. W. Laubender. Arch. f. Exp. Path. u. Ph. **165**, 5, '32.
16. M. H. Givens & L. B. Mendel. Jl. Biol. Chem. **31**, 421, '17.
17. H. Steenbock, V. E. Nelson & E. B. Hart. Jl. Biol. Chem. **19**, 399, '14.
18. Birkner & R. Berg. Zs. f. Klin. Med. **77**, 471, '13.
19. A. T. Shohl & A. Sato. Jl. Biol. Chem. **58**, 257, '24.
20. T. Addis, E. Mc. Kay & L. L. Mc. Kay. Jl. Biol. Chem. **71**, 157, '27.
21. E. Brouwer. Tierernährung. **7**, 1, '35.

22. Geciteerd naar T. G. Benedict. Am. Jl. Physiol. **16**, 409, '06.
23. Donald Mainland. The Treatment of clinical and laboratory data. Oliver and Boyd, 1938.
24. R. A. Fisher. Statistical methods for Research Workers. Oliver and Boyd, 1938.
25. T. Osborne & L. B. Mendel. Jl. Biol. Chem. **20**, 351, '15.
26. H. C. Sherman & Ella Woods. Jl. Biol. Chem. **66**, 29, '25.
27. A. White & E. F. Beach. Jl. Biol. Chem. **122**, 219, '37.

STELLINGEN

I

De passieve clichébehandeling van de thrombose met bedrust en elevatie is verwerpelijk.

II

De chemotherapie (Prontosil en Dagénan) bij otitis media worde slechts toegepast in bepaalde, zeer nauwkeurig uitgezochte gevallen.

III

Overwogen dient te worden de homoeopathie in het geneeskundig onderwijs op te nemen.

IV

De tegenwoordige afwijzende houding ten opzichte van de zoogenaamde chronische appendicitis dient herzien te worden.

V

De specifieke behandeling van lues latens inveterata moet worden ontraden.

VI

Voor het vaststellen van de waarde der planigraphie voor het caverneonderzoek der longen is een vergelijkend onderzoek noodig. Naast planigrammen vervaardige men daartoe van een groot aantal patienten tevens gewone Röntgenogrammen met behulp van een bewegend strooistralenfilter, waarbij de stralenhardheid, de focus-film-afstand en de stralenrichting oordeelkundig moeten worden gevarieerd.

