

**Zeitschrift:** Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

**Band:** 114 (1972)

**Heft:** 1

**Artikel:** Eine einfache Anordnung zur Messung der Rumenfermentation in vitro mit Rinderpensensaft

**Autor:** Schatzmann, H.J. / Schlunegger, U.P.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-590322>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 17.11.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

Aus dem Veterinär-pharmakologischen Institut<sup>1</sup>  
und Gerichtlich-medizinischen Institut<sup>2</sup> der Universität Bern

## Eine einfache Anordnung zur Messung der Rumenfermentation in vitro mit Rinderpansensaft

*notiert*

Von H.J. Schatzmann<sup>1</sup> und U.P. Schlunegger<sup>2</sup>

Die im folgenden beschriebene Apparatur erlaubt, an 500 ml Pansensaft die Geschwindigkeit der Gasproduktion und die Veränderung des pH fortlaufend zu messen. Es können während des Versuchs Proben entnommen und Flüssigkeiten oder feste Substanzen zugefügt werden. Das pH kann durch periodische Zugaben von  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung konstant gehalten werden. Zur Analyse der produzierten Gase eignet sich die Anlage nicht, da sie im gasgefüllten Teil ein beträchtliches Totvolumen aufweist. Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure wurden in frischem und inkubiertem Pansensaft gaschromatographisch quantitativ bestimmt. Es soll gezeigt werden, daß Pansensaft des Rindes, der mit der Schlundsonde entnommen wird und deshalb wenig feste Bestandteile enthält, in vitro während mehrerer Stunden eine nicht sehr hohe, aber qualitativ annähernd normale Stoffwechselaktivität beibehält.

### Beschreibung des Geräts und der Arbeitsweise

Abb. 1 zeigt schematisch die Anordnung. In einem Schüttelwasserbad von  $38^\circ\text{C}$  (B) ist das flachzylindrische Reaktionsgefäß (A), welches den Pansensaft enthält, eingetaucht. Das mit einem gelochten Kunststoffdeckel gasdicht verschließbare Reaktionsgefäß von 500 ml Fassungsvermögen wird von der Firma Metrohm (Herisau) hergestellt. Die zentrale Bohrung im Deckel trägt eine kombinierte Glaselektrode (Metrohm), welche zur Messung des pH mit einem empfindlichen und genauen Millivoltmeter verbunden ist. Dazu eignet sich eine Meßschaltung nach dem Kompensationsprinzip (Kompensator E 388 Metrohm). Durch eine zweite Öffnung im Deckel wird das entstehende Gas durch eine Schlauchverbindung in eine Waschflasche geleitet, welche 3 cm hoch mit verdünnter Schwefelsäure gefüllt ist und den Druck im Gefäß konstant hält. Von der Waschflasche kann das Gas wechselweise durch einen Quetschhahn nach außen oder in die Gasbürette geleitet werden.

Die Gasbürette besteht aus einem am Ende leicht verengten horizontalen Glasrohr von 3,3 mm Innendurchmesser. Auf dem Rohr ist ein Abschnitt, der 5 ml entspricht, durch zwei Marken abgegrenzt. Zur Messung wird die Bürette durch den Dreiweghahn mit verdünnter Schwefelsäure

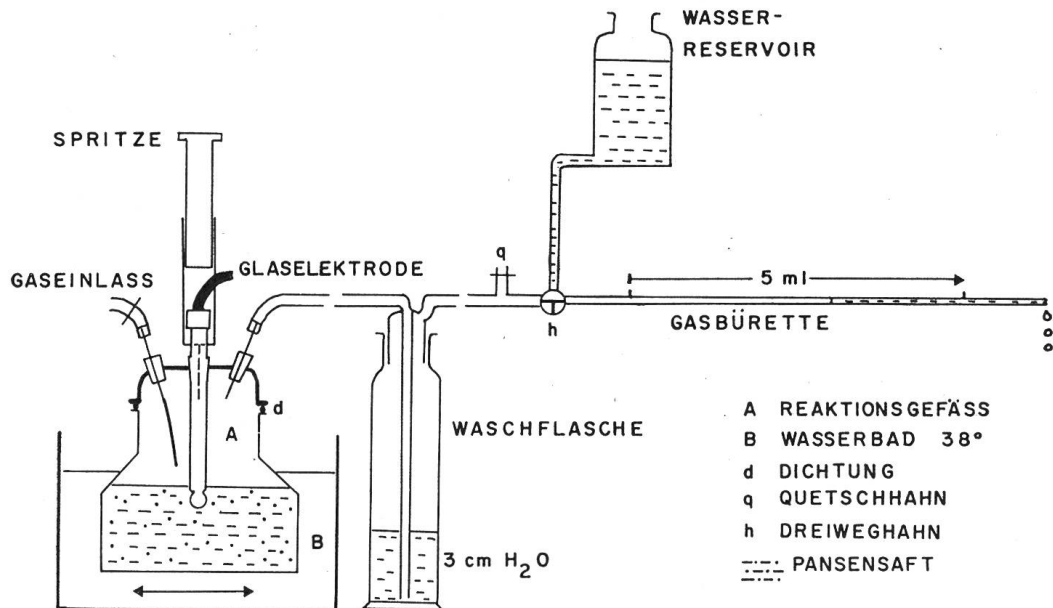


Abb. 1 Erklärung siehe Text.

gefüllt und durch Drehen des Hahns mit dem Gasrohr aus der Waschflasche verbunden. Mit einer Stoppuhr wird die Zeit gemessen, in welcher der Meniskus die Strecke zwischen den Marken zurücklegt. Daraus ergibt sich die Gasproduktion pro Zeiteinheit. Die Messung kann in beliebigen Zeitabständen wiederholt werden. Durch Silikonisieren des Rohrs (eine Verdünnung 1 : 10 von Dow Corning fluid 200 in Chloroform wird in das Rohr gefüllt und anschließend das Chloroform durch Durchsaugen von Luft verdampft) kann vermieden werden, daß sich der Meniskus bei geringem Gasfluß ruckweise vorschiebt. Die Schlauchverbindungen bestehen aus Novoplastschlauch von 4 mm Innendurchmesser und 1,5 mm Wandstärke. Die dickwandigen Schläuche sollen Gasverluste durch Diffusion verhindern, und die Ansäuerung des Wassers setzt die Löslichkeit der Kohlensäure herab. Die Bürette mißt das Gasvolumen bei Zimmertemperatur und Atmosphärendruck. Der Druck im Reaktionsgefäß bleibt auch während der Messung absolut konstant. An die gleiche Bürette können abwechselnd mehrere Reaktionsgefäße angeschaltet werden.

Durch eine dritte Bohrung im Deckel kann der Gasraum zu Beginn mit einem Stickstoff-Kohlensäure-Gemisch durchspült werden, um anaerobe Bedingungen herzustellen und einen gewünschten  $\text{CO}_2$ -Partialdruck festzulegen. Nachher wird die Gaszuleitung durch einen Quetschhahn verschlossen. Die vierte Bohrung trägt eine 20-ml-Injektionsspritze mit einer Kunststoffdichtung am Kolben, welche bewirkt, daß der Kolben schlecht gleitet. Aus dieser Spritze kann, wenn nötig, 1 M  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung zur Hebung des pH zugesetzt werden. Die letzte Bohrung kann benützt werden, um durch eine

Spritze Probelösungen ohne Luftzutritt zuzugeben, oder wird durch einen Stopfen verschlossen und dient dazu, feste Substanzen einzuführen oder Proben mit einer Spritze oder Pipette zu entnehmen. Öffnen dieses Verschlusses stört die Gasmessung nicht, da der Druck in kurzer Zeit nach Schließen wieder 3 cm erreicht. Dagegen tritt dabei natürlich etwas Sauerstoff ins Gefäß ein. Die Anschlüsse an den Deckel bestehen aus gewöhnlichen Venenpunktionsnadeln, welche durch Gummistopfen gestochen werden.

Ein Liter Pansensaft wurde bei laktierenden Kühen, die freien Zugang zu Wasser hatten, 2 bis 3 Stunden nach der Fütterung durch die Schlundsonde entnommen, sofort in ein auf 40 °C vorgewärmtes Dewargefäß gefüllt und nach einigen Minuten mit ungefähr einem Viertel frisch zubereitetem Heubrei vermischt. Der Versuch begann, bevor die Temperatur 34°C unterschritt. Der Heubrei wurde aus demselben Heu hergestellt, das den Tieren als Futter diente. Das Heu wurde mit der Schere zerkleinert und mit 100 mM NaHCO<sub>3</sub>-Lösung in einem Küchenmixer etwa 10 Minuten lang kräftig bearbeitet. 500 ml des Gemischs wurden ins Reaktionsgefäß gefüllt, dieses verschlossen und 5 bis 10 Minuten unter Schütteln mit 95% N<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub> durchströmt. Nach Schließen der Gaszuleitung wurde mit den Messungen begonnen.

Wenn Absolutwerte für das pH erwünscht sind, ist die Elektrode vorher bei 38°C zu eichen und während der Ablesungen das Schütteln einzustellen, da die Flüssigkeitsbewegung ein kleines Potential an der Elektrodenoberfläche bewirkt.

Zur Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren (fFS) Essigsäure, Propionsäure und n-Buttersäure erwies sich die Gaschromatographie an Porapak Q (Waters Assoc. Inc., Framingham, Mass.) als geeignet. Eine 20-ml-Probe des Pansensaftes wurde in einem 250-ml-Rundkolben mit 5 ml 1 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angesäuert und sofort einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Dabei wurden etwa 300 ml Destillat erzeugt und der Kolben so geheizt, daß gegen Ende der Destillation der Pansensaft leicht eingeeengt, aber nicht vollständig eingedampft wurde. Auf diese Weise wurde auch die relativ wenig flüchtige Essigsäure quantitativ übergetrieben. Ein Teil des Destillats wurde mit NaOH titriert und das gesamte Destillat mit etwa 1/5 Überschuß an NaOH alkalisch gemacht (z.B. 1,4 mMol Säure titriert, mit 1,8 mMol NaOH versetzt) und knapp unter dem Siedepunkt im Luftstrahl auf das ursprüngliche Volumen des Pansensaftes eingedampft. 5 ml des Endprodukts wurden mit etwa 2,5 g feuchtem Amberlite IR 120 in der Säureform (entsprechend mindestens 4 mMol) einige Minuten in einem Glasstopfenröhrchen geschüttelt. Der Überstand wurde dadurch sauer, also die fFS aus ihren Na-Salzen freigesetzt, ohne daß ein Säureanion, das die Chromatographiekolonne verunreinigt, zugesetzt werden mußte.

4 µl dieser Lösung wurden direkt auf eine 6-ft-Glaskolonne (2 mm Durchmesser), gefüllt mit Porapak Q (100–120 mesh), eines Beckman-GC4-

Geräts mit Flammenionisationsdetektor gegeben und isothermal ( $210^{\circ}\text{C}$ ) chromatographiert. Als Vergleichslösung diente ein Gemisch von 60 mM Essigsäure, 20 mM Propionsäure und 5 mM Buttersäure. Es ergab sich eine vollständige Trennung der drei wichtigen fFs. In frischem Pansensaft waren mit dem beschriebenen Verfahren Isobuttersäure und die Valeriansäuren nicht erfaßbar.

Cellulose und die fFS stammten von der Firma Fluka, die übrigen verwendeten Substanzen waren analysereine Produkte von Merck.

### Versuchsbeispiele

Die beiden in Abb. 2 und der Tabelle dargestellten Versuche illustrieren, welche Stoffwechselaktivität bei den beschriebenen Versuchsbedingungen beobachtet werden kann. Abb. 2 A zeigt, daß die Gasproduktion etwa 2,8 ml pro Liter und Minute beträgt und während 2 bis 3 Stunden nur wenig

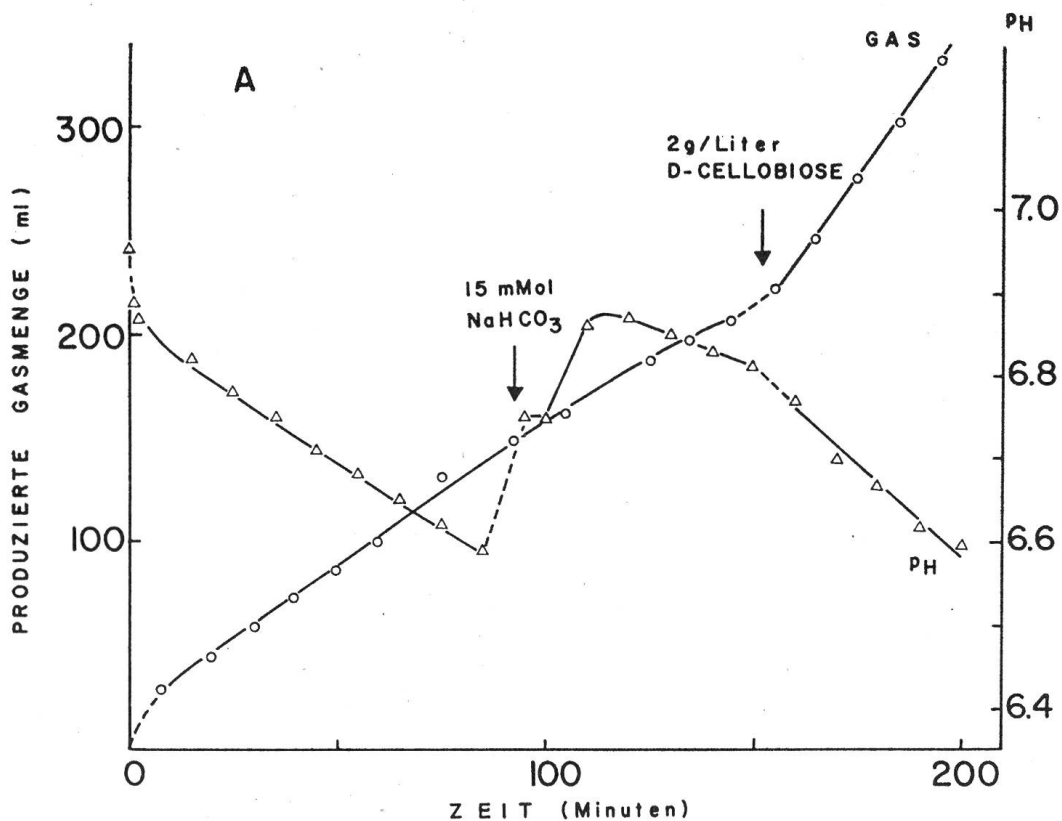


Abb. 2 A. Gesamte Gasmenge produziert von 500 ml eines Gemischs aus Pansensaft und Heubrei unter anaeroben Bedingungen bei  $38^{\circ}\text{C}$  und gleichzeitig gemessene pH-Änderung. Beachte, daß die Hebung des pH durch Bikarbonatzusatz die Gasproduktionsgeschwindigkeit nicht beeinflußt und daß Cellobiosezusatz die Aktivität sofort erhöht.

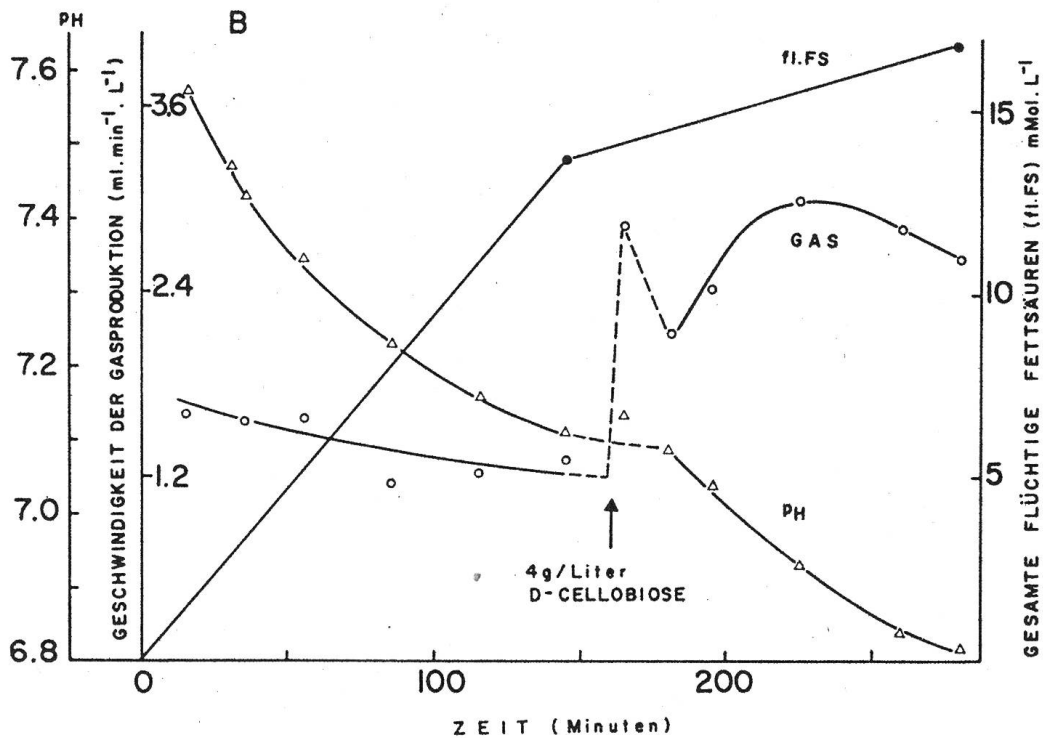


Abb. 2 B. Geschwindigkeit der Gasproduktion, pH-Änderung und Gesamtmenge der produzierten flüchtigen Fettsäuren. Zahlen für f.i.FS in Tab. 1. Bedingungen wie in A. Die Gasproduktion lag in diesem Versuch unter dem mittleren Wert aus allen Versuchen. Beachte, daß Cellobiosezusatz die Gasproduktion, aber nicht die Produktion der f.i.FS steigert.

abnimmt. Das Mittel aus 7 Versuchen war  $2,86 \pm 0,84 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  ( $\pm 1$  Standardabweichung). Im Versuch der Abb. 2 B war die Gasproduktion recht gering, nämlich nur etwa  $1,4 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ . Die Säureproduktion, die sich im Absinken des pH äußert, verlangsamt sich ebenfalls während mehrerer Stunden nur wenig. In A wurde nach 100 Minuten das pH durch Zugabe von Bikarbonatlösung auf den Anfangswert zurückgebracht. Es brauchte dazu 15 mMol oder 18 mM pro Liter und Stunde. Da bei pH 6,87 das Verhältnis  $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$  3,3 beträgt, heißt das, daß 1 Liter Pansensaft in einer Stunde 4,3 mMol Säure produzierte. In dem Versuch der Abb. 2 B wurden die f.i.FS gemessen. Es entstanden, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, während der ersten  $2\frac{1}{2}$  Stunden 5,5 mMol dieser Säuren pro Liter und Stunde, und zwar im Verhältnis 1 Essigsäure: 0,39 Propionsäure: 0,125 Buttersäure. Im frischen Pansensaft des Tieres war das Verhältnis 1 : 0,17 : 0,087. In vitro verschob sich also das Verhältnis etwas zugunsten der höheren Fettsäuren, die Reihenfolge der Säuren nach der Entstehungsgeschwindigkeit ist aber grundsätzlich die gleiche wie die Reihenfolge der Konzentrationen und Produktionsraten im Pansen (siehe Diskussion).

Die beiden Abbildungen zeigen, daß Zusatz des Disaccharids D(+)-Cellobiose in der Konzentration 5,9 mM oder 11,8 mM die Gas- und Säureproduktion stark steigert. Aus Abb. 2 B ist ersichtlich, daß trotz der Verdoppelung der Gasproduktion die Bildung von fFs nicht nur nicht zu-, sondern abnahm.

Tab. 1 Produktion flüchtiger Fettsäuren in vitro.

Zeit (Min.)	Essigsäure		Propionsäure		Buttersäure	
	Konzentr. (mM)	Produktion (mMol/L·h)	Konzentr. (mM)	Produktion (mMol/L·h)	Konzentr. (mM)	Produktion (mMol/L·h)
0	20,75		3,44		1,8	
145*	29,7	3,6	6,0	1,4	2,94	0,457
280*	31,9	0,88	7,18	0,47	2,66	- 0,11

Gleicher Versuch wie Abb. 2 B.

Frisch mit der Schlundsonde entnommener Pansensaft einer Kuh wurde mit Heu in 100 mM NaHCO<sub>3</sub>-Lösung verdünnt und davon eine 20-ml-Probe destilliert und gaschromatographisch analysiert. Vor Inkubation und 145 Min. und 280 Min. nach Beginn der anaeroben Inkubation bei 38°C wurde eine Probe entnommen. Nach Entnahme der 2. Probe wurden 4 g/L D(+)-Cellobiose zugesetzt.

\* Zur Berechnung Intervall auf 2,5 h aufgerundet.

### Diskussion

Zur Messung der Gasproduktion im «künstlichen Pansen» wurden schon die verschiedensten Geräte beschrieben. Darunter befinden sich sehr einfache Ausführungen, bei denen das Gas den Kolben einer Spritze rückwärts schiebt [1], und sehr raffinierte wie das Kalorimeter von Walker und Forrest [2], das erlaubt, Wärme- und Gasproduktion zu messen, oder die steady-state Anordnung von Bowie, bei der kontinuierlich Suspension abgesaugt und durch eine gleiche Menge Substratlösung ersetzt wird [3]. Auch die Warburgtechnik wurde auf Rumeninhalt angewendet [4]. Die hier beschriebene Variante ist für große Volumina eingerichtet, was nützlich ist, wenn Metaboliten, die in kleinsten Mengen anfallen, isoliert werden sollen. Sie hat den Vorteil, daß während des Versuchs Proben entnommen und Zusätze gemacht werden können. Die volumetrische Gasmessung in der wassergefüllten Bürette ist ziemlich präzise und trotzdem einfach, weil keine Gefäßkonstanten bestimmt werden müssen und keine Umrechnungen nötig sind wie bei der manometrischen Technik von Warburg. Sie hat den Nachteil, diskontinuierlich zu sein, pro Messung einige Minuten in Anspruch zu nehmen und die ständige Anwesenheit des Experimentators zu erfordern, weil eine Registrierung unmöglich ist.

Es herrscht Einmütigkeit darüber, daß hohe Stoffwechselaktivität in vitro nur zu erhalten ist, wenn Panseninhalt durch eine Fistel aus den Regionen mit festen Anteilen entnommen wird, offenbar deshalb, weil die Mikroorganismen dort in höherer Dichte angetroffen werden [5]. In unseren



Versuchen, mit wenig verdünntem Saft aus der Schlundsonde, ist die Aktivität tatsächlich nicht sehr hoch. Die Gasproduktion entspricht etwa derjenigen, die El-Shazly und Hungate [1] an unverdünntem Rumeninhalt aus Fisteln und ohne weiteren Substratzusatz fanden, und ist nur etwa  $1/10$  bis  $1/20$  der von diesen Autoren gemessenen maximalen Aktivität, die mit stark verdünntem Fistelsaft in einem K-Phosphatpuffer mit  $\text{NH}_4$ , Mg und NaCl-Zusatz und Heu als Substrat erhalten wurde. Eine Überschlagsrechnung zeigt, daß auch die von uns gemessene Fettsäurereproduktion geringer ist als in vivo. Für das Schaf haben Gray et al. [6] eine Produktion von (4 bis) 5 Mol pro Tag oder 5 Mol/kg Futtertrockensubstanz angegeben. Nimmt man an, daß eine laktierende Kuh (10- bis) 15mal mehr fFS als das Schaf produziert (was der akzeptierten Zahl von 4 kg/Tag entspricht) und 15 kg Heu pro Tag aufnimmt, und setzt man 70 Liter als das Volumen des Panseninhalts ein, so ergibt sich eine Produktion von 44 mMol pro Liter und Stunde. Hungate et al. [7] schätzten durch Extrapolation der In-vitro-Aktivität auf die Zeit Null die wirkliche Aktivität im Pansen der laktierenden Kuh auf etwa  $40 \text{ mMol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ . In vitro fanden Hungate et al. [4] an verdünntem SONDensaft von Kühen unter hohem  $\text{CO}_2$ -Druck und mit einer manometrischen Technik  $21 \text{ mMol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  Gesamtsäureproduktion, wobei nicht festgestellt wurde, um welche Säuren es sich handelte. Die in unseren Versuchen auftretende Geschwindigkeit von  $5 \text{ mMol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  beträgt also nur etwa  $1/8$  dessen, was in vivo, und  $1/4$  oder mehr von dem, was mit verdünntem Pansensaft in vitro zu erwarten ist. Wichtiger als die absolute Bildungsgeschwindigkeit scheint uns aber, daß die Gärung qualitativ normal verläuft, das heißt, daß alle drei wichtigen fFS gebildet werden, und zwar ungefähr im normalen Verhältnis zueinander. Am Schaf fanden Leng und Leonard [8] in vivo einen etwas höheren Anteil an Butyrat und einen etwas geringeren an Propionat.

Die Verwendung von Saft aus der Sonde hat den Vorteil, daß die Untersuchungen auf Tiere ohne Fistel und damit auf klinische Fragestellungen ausgedehnt werden können. Möglicherweise ließe sich die Aktivität noch etwas steigern durch Verdünnen des Saftes mit einer Elektrolytlösung, die dem Speichel besser entspricht, und durch Erhöhen des  $\text{CO}_2$ -Partialdrucks.

Da das entstehende Gasmisch sich aus etwa 50%  $\text{CO}_2$  aus dem Stoffwechsel und 37%  $\text{CO}_2$ , welches durch die Säuren aus dem Bikarbonatpuffer freigesetzt wird, und aus 13% Methan (Hungate et al. [4]) zusammensetzt, gibt die Messung der Geschwindigkeit seiner Entstehung bloß ein Maß für mikrobielle Aktivität im allgemeinen. Nur die Messung der fFS erlaubt ein Urteil darüber, ob das komplizierte Zusammenspiel aller Mikroorganismen in vitro noch einigermaßen normal vor sich geht.

Zusatz von mäßigen Konzentrationen von D(+)-Cellobiose steigerte die Säure- und Gasproduktion stark, und zwar in einer Phase des Versuchs,



in der die fFS-Produktion abnahm. Offenbar entstehen unter diesen Bedingungen eine oder mehrere wenig flüchtige Säuren (zum Beispiel Bernsteinsäure oder Milchsäure), die bei der Destillation nicht oder zum geringsten Teil übergehen. Das Gaschromatogramm nach Cellobiose zeigte im absteigenden Teil des Propionsäuregipfels eine leichte, sonst nicht vorhandene Erhebung, deren Ursache wir nicht identifiziert haben. Eine andere Möglichkeit wäre, daß die CO<sub>2</sub>-Produktion durch Cellobiose gefördert wird. Auch Glucosezusatz führte zu einer starken Steigerung der Gas- und Säureproduktion.

Gaschromatographische Bestimmung der fFS im Pansensaft wurde mehrfach und für verschiedene Sorptionsmittel beschrieben [9, 10, 11]. Die Anwendung von Porapak Q bei isothermaler Arbeitsweise und Applikation der Säuren in Wasser macht das Verfahren sehr einfach. Die Auftrennung von Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure ist vollständig, und die Gipfel sind symmetrisch. Die Trennung von n-Buttersäure und Isobuttersäure dagegen ist nicht befriedigend. Die Isobuttersäure und die Valeriansäuren des Panseninhalts konnten mit dem beschriebenen Verfahren nicht bestimmt werden. Vermutlich müßte das Destillat für die Erfassung der Valeriansäuren stärker eingengt werden.

#### Zusammenfassung

1. Ein aus üblichen Laborglasgeräten zusammenstellbarer Apparat zur Messung der Gasproduktion und der pH-Änderung an 500 ml Pansensaft wird beschrieben.
2. Ein gaschromatographisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Acetat, Propionat und Butyrat in Pansensaft wird angegeben. Nach Wasserdampfdestillation werden die freien Säuren in Wasser gelöst auf Porapak Q chromatographiert.
3. Es wird gezeigt, daß sich an Pansensaft von Kühen, den man mit der Schlundsonde gewinnt, *in vitro* eine gegenüber den Verhältnissen *in vivo* verlangsamte, aber qualitativ weitgehend normale Fermentation beobachten läßt.

#### Résumé

1. Les auteurs décrivent un appareil composé de la verrerie usuelle de laboratoire destiné à mesurer la production de gaz et la modification du pH à partir de 500 ml de suc de panse.
2. Ils indiquent un procédé de chromatographie pour la détermination quantitative de l'acétate, du propionate et du butyrate dans le suc de la panse. Après distillation à la vapeur d'eau, les acides libres sont dissous dans de l'eau et chromatographiés sur Porapak Q.
3. Ils démontrent que le suc de panse de vaches obtenu à l'aide de la sonde œsophagienne développe *in vitro* une fermentation ralentie par rapport aux conditions *in vivo* mais qui est qualitativement très proche de la fermentation normale.

#### Riassunto

1. Viene descritto un apparecchio costruito con usuali attrezzi da laboratorio in vetro, per la misurazione della produzione di gas e delle variazioni del pH di 500 ml di succo del panzone.

2. Viene indicato un procedimento gascromatografico per la determinazione quantitativa dell'acetato, propionato e butirato nel succo del panzone. Dopo la distillazione a vaporacqueo gli acidi liberi vengono sciolti in acqua e cromatografati su Porapak Q.

3. È dimostrato che il succo del panzone prelevato con la sonda esofagea presenta, in vitro, una fermentazione più rallentata rispetto ai rapporti in vivo, ma tuttavia generalmente normale dal lato qualitativo.

### Summary

1. A simple apparatus, built of customary laboratory equipment, allowing constant pressure measurements of gas production and monitoring pH changes in 500 ml of ruminal fluid is described. The reaction vessel is equipped with a glass electrode and three ports for flushing with gas, addition of bicarbonate solution, sampling of fluid and a gas outlet connected via a wash bottle to a horizontal gas burette for measuring rate of gas production.

2. Gas chromatography of acetate, propionate and butyrate as free acids in aqueous solution on Porapak Q and the preliminary isolation of these acids from ruminal fluid by steam distillation is described

3. Evidence is presented suggesting that ruminal fluid from cattle, collected through an oesophageal tube, displays qualitatively normal fermentation, although the fermentation rate falls below that observed in vivo or the one obtained with whole ruminal contents from a fistula.

### Literatur

[1] El-Shazly K. and Hungate R.E.: Fermentation capacity as a measure of growth of rumen microorganisms. *Appl. Microbiol.* 13, 62 (1965). – [2] Walker D.J. and Forrest W.W.: The application of calorimetry to the study of ruminal fermentation in vitro. *Aust. J. Agric. Res.* 15, 229 (1964). – [3] Bowie W.C.: In vitro studies of rumen microorganisms using a continuous flow system. *Am. J. Vet. Res.* 23, 858 (1962). – [4] Hungate R.E., Fletcher D.W., Dougherty R.W., Barrantine B.F.: Microbial activity in the bovine rumen: its measurement and relation to bloat. *Appl. Microbiol.* 3, 161 (1955). – [5] Hungate R.E.: Ruminal Fermentation. In: *Handbook of Physiology. Alimentary Canal*, page 2725. *Am. Physiol. Soc.* 1969. – [6] Gray F.V., Weller R.A., Pilgrim A.F., Jones G.B.: The rates of production of volatile fatty acids in the rumen, III. Measurement of production in vivo by two isotope dilution procedures. *Aust. J. agric. Res.* 17, 69 (1966). – [7] Hungate R.E., Mah R.A., Simesen M.: Rates of production of individual volatile fatty acids in the rumen of lactating cows. *Appl. Microbiol.* 9, 554 (1961). – [8] Leng R.A. and Leonard G.J.: Measurement of the rates of production of acetic, propionic and butyric acid in the rumen of the sheep. *Br. J. Nutr.* 19, 469 (1965). – [9] Erwin E.S., Marco G.J., Emery E.M.: Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44, 1768 (1961). – [10] Fenner H. and Elliot J.M.: Quantitative method for determining the steam volatile fatty acids in rumen fluid by gas chromatography. *J. Animal Sci.* 22, 624 (1963). – [11] Eenaemen C.C., Bienfait J.M., Lambot O.: La détermination quantitative des acides gras volatiles dans le liquide du rumen par chromatographie en phase gazeuse. *Ann. méd. vét.* 109, 569 (1965).

Wir danken Herrn Prof. H. Gerber, daß er uns erlaubte, den Versuchstieren der Nutztierklinik Pansensaft zu entnehmen, und den Herren F. Stucki und H. Hofer für ihre freundliche Hilfe bei den Entnahmen.