

J. M. van Leeuwen, H. J. Weide en C. C. Braas

*Instituut voor Veevoedingsonderzoek, Hoorn*

# De voederwaarde van sojabloem, mede in vergelijking met mager melkpoeder

with a summary

The nutritive value of soybean oil meal in comparison  
with dried skimmed milk



1969 *Centrum voor landbouwpublikaties en landbouwdocumentatie*  
*Wageningen*

406813

ISBN 90 220 0192 X

© Centrum voor Landbouwpublicaties en Landbouwdocumentatie, Wageningen, 1969.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotocopie, microfilm of op welke andere wijze ook, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

No part of this book may be reproduced and/or published in any form, photoprint, microfilm or any other means without written permission from the publishers.

# **Inhoud**

<b>1 Inleiding</b>	1
1.1 Doel van het onderzoek	2
<b>2 Werkwijze</b>	3
2.1 Opzet en verloop van de proeven	3
2.2 Voeding	6
2.3 Waarnemingen	6
<b>3 Resultaten</b>	9
<b>4 Bespreking</b>	15
<b>Samenvatting en conclusies</b>	17
<b>Summary and conclusions</b>	17
<b>Literatuur</b>	18

## 1 Inleiding

Onder sojabloem wordt hier verstaan het poedervormige produkt, bereid uit sojabonen (*Soja hispida*), waaraan het vet grotendeels is onttrokken en waaruit de zaadschillen geheel of gedeeltelijk zijn verwijderd.

Ongeveer een halve eeuw geleden deden de eiwitrijke sojaprodukten hun intrede in de voeding. Deze eiwitten werden als zeer waardevol beschouwd. Rauwe soja vertraagde echter de groei, vooral bij éénmagige dieren (ratten, kuikens en varkens). Volgens recent literatuuronderzoek van VERMEERSCH e.a. (1966a) berustte deze groeiremming vermoedelijk op een verminderde voederopneming, een verteringsdepressie, een verminderde biologische waarde van het eiwit, een verminderde metaboliseerbare energie ten opzichte van de controlerantsoenen en/of op de aanwezigheid van schadelijke factoren in de rauwe soja.

Zo toonden HAM e.a. (1944) in rauw sojaschroot een antitrypsinefactor aan, die door KUNITZ (1946) in kristallijne vorm kon worden geïsoleerd. BUSSARD e.a. (1925) vonden in rauwe soja een zeer actief hemagglutinine, wat door LIENER in 1952 door gefractioneerde precipitatie met  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  in zuivere toestand werd verkregen. Het bleek een albumine en hij noemde het 'soyine' (LIENER, 1953). Vervolgens zou in met trichloorethyleen geëxtraheerd sojameel een bloedtoxische of antibloedstollende factor voorkomen, wat door PRITCHARD e.a. (1952) werd aangetoond voor runderen, door EVELETH e.a. (1953) voor kuikens en door HOLM e.a. (1953) voor schapen. In Nederland werd de z.g. 'Brabantse ziekte' hiermee in verband gebracht. Ook wanneer geen residuen van het extractiemiddel waren achtergebleven zou een bepaalde stof die qua structuur gelijk op S-(dichlorovinyl)-L-cysteïne dezelfde verschijnselen kunnen oproepen (McKINNEY e.a., 1957). In met hexaan geëxtraheerd meel zou deze factor afwezig zijn (GRIMINGER e.a., 1956).

SHARPLESS e.a. (1939) constateerden in rauwe soja een strumagene factor voor ratten; WILGUS e.a. (1952) zagen het ook bij kuikens. Volgens POTTER e.a. (1954) was de oorzaak een sapogenol-B en zij isoleerden deze stof.

Het was reeds bij WELLS en OSBORNE (1911) bekend dat veel plantaardige en dierlijke eiwitten ongehinderd de wand van het maagdarmkanaal konden passeren. Eenmaal in het bloed beland gaven zij een sterke prikkel tot de vorming van specifieke antilichamen. In de soja vonden zij een globuline, genaamd glycinine, wat een antigene werking bezat bij Guinese biggetjes.

In 1961 zag MORTIMER bij een kind anaphylaxie optreden na innemen van een sojapreparaat. Enkele huidreacties bij andere kinderen bleken positief te zijn tegen sojaantigeen. In 1965 toonden VAN ADRICHEM e.a. antilichamen aan in het bloed

van kalveren, die gemest werden met een melkvervangend preparaat, waarin 10 % drooggetoaste sojabloem was opgenomen ter vervanging van het (duurdere) magere melkpoeder. De huidreacties verliepen negatief en anaphylaxie trad niet op. De dieren groeiden minder snel.

Bijna alle voornoemde schadelijke werkingen van soja zijn drastisch te verminderen door verhitting. Volgens JACQUOT e.a. (1947) en RAMBOUD e.a. (1961) zou droge warmte minder efficiënt zijn en kwaliteitsvermindering van het eiwit tot gevolg hebben vergeleken met vochtige warmte. Bij elke vorm van verwarmen is een bepaald optimum van belang. Overdreven verhitting leidt tot denaturatie van het eiwit, waarbij het gehalte aan resorbeerbare aminozuren, vooral lysine, daalt (DONOSO e.a., 1962; DAMMERS, 1964). Dit treedt onder andere op door een reactie van diverse aminozuren met gemakkelijk reduceerbare suikers (Maillard-reactie), waarbij tevens bruinkleuring ontstaat (PENG-YUNG e.a., 1949). Ook de absolute hoeveelheid aminozuur kan bij oververhitting teruglopen. Bij onderverhitting echter oefenen de schadelijke factoren in soja hun remmende invloeden uit.

De optimale autoclaafbehandeling van rauwe sojabonen ligt volgens DYSLI e.a. (1967) voor jonge lammeren bij 30 min. en voor jonge ratten bij 15 min. (120°C en 1,05 kg/cm<sup>2</sup> stoomdruk met schalen van 4 à 5 cm diep). Om de optimale verhitting van soja vast te kunnen stellen zijn door VERMEERSCH e.a. (1966b) een aantal methoden beschreven.

### **1.1 Doel van het onderzoek**

Het doel van deze studie is de kwaliteit van het (gemodificeerde) soja-eiwit te vergelijken met het hoog gekwalificeerde eiwit in magere melkpoeder. Beide eiwitbronnen zijn gebruikt in kunstmelk voor mestkalveren. Bovendien is zowel in vitro als in vivo de antigene werking van het soja-eiwit onderzocht en vervolgens zijn de gebruikte soja-eiwitten op hun aminozurensamenstelling geanalyseerd. Ook enkele chemisch behandelde soja-producten werden in het onderzoek betrokken. Uiteindelijk was het prijsverschil tussen sojabloem en magere melkpoeder de belangrijkste drijfveer voor dit onderzoek.

## 2 Werkwijze

### 2.1 Opzet en verloop van de proeven

1. Van 14-8-'64 tot 25-11-'64 vond de eerste proef plaats met 2 groepen van 10 kalveren, waarbij in het proefrantsoen 10 % drooggetoaste sojabloem was opgenomen ter vervanging van magere melkpoeder. Een dier uit de proefgroep stierf aan een longontsteking.

2. Van 7-10-'65 tot 17-1-'66 vond bij 5 proefkalveren (a) een herhaling plaats van de eerste proef en 5 andere proefkalveren (b) ontvingen 5,5 % promine-d in het kunstmelkpoeder. Promine-d is geïsoleerd soja-eiwit en wordt verkregen door ongetoaste sojabloem te extraheren met NaOH bij pH = 8,0, waardoor vooral de eiwitten, koolhydraten en mineralen in oplossing gaan. Bij pH = 4,6 volgt daarna onder invloed van HCl een precipitatie van het opgeloste eiwit; na isolatie van het precipitaat wordt de pH met NaOH op 7,0 gebracht en het materiaal gespraydroogd. Het eindproduct bevat 88,5 % eiwit en 4,5 % as (Central Soya).

3. Van 17-3-'66 tot 22-6-'66 was 10 % vooraf getoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem in de kunstmelk voor 10 proefkalveren verwerkt. Ter bereiding van deze sojabloem werd gedurende ca. 1½ uur drooggetoaste sojabloem in aanwezigheid van een zoutzuuroplossing gedigereerd. Na toevoeging van  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  werd de massa geneutraliseerd en gespraydroogd.

4. Van 21-9-'67 tot 19-12-'67 bestond 15% van de kunstmelk uit het onder 3 vermelde materiaal. De industrieel uitgevoerde modificatie van de sojabloem bleef in principe gelijk, maar de eiwitafbraak kan tengevolge van kleine wijzigingen in het fabricageproces groter zijn geweest dan bij proef 3. Er waren weer 10 proefkalveren.

5. Van 17-11-'66 tot 22-2-'67 werd kunstmelk met 10 % drooggetoaste en later in de autoclaaf met vochtige warmte na-verhitte sojabloem beproefd bij 2 groepen van 5 kalveren. De naverhitting duurde voor de ene groep (a) 30 minuten en voor de andere groep (b) 60 minuten met een overdruk van 1 atm. en een temperatuur van 120°C. Hiertoe werd de sojabloem in ijzeren schalen van 3 cm diep in de autoclaaf geplaatst nadat het water aan de kook was gebracht. Na de behandeling werden de blikken direct geleegd in grote bakken om koekvorming te voorkomen en



palmitvet + antioxyd.	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
palm fat + antioxyd.	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
reuzel + antioxyd.	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
lard + antioxyd.	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
additieven	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
additives	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

<sup>1</sup> controlegroep / control group

<sup>2</sup> proefgroep / experimental group

Table 1. The most important components as % of the dry material of milk substitutes used in 5 experiments.

Table 2. Analyses van de gebruikte kunstmelkpoeders in 5 proeven.

	1		2		3		4		5		a		b	
	c <sup>1)</sup>	p <sup>2)</sup>	c	p	c	p	c	p	c	p	c	p	c	p
droge stof / dry matter (%)	24,5	27,6	94,3	93,5	94,6	93,6	94,1	93,3	94,2	93,3	94,2	93,8	93,3	93,3
ruw eiwit / crude protein (%)	17,8	18,6	24,8	27,4	25,0	26,6	24,9	24,4	24,3	26,2	24,3	26,2	26,6	26,6
ruw vet / crude fat (%)			18,7	19,5	17,8	18,0	17,7	17,6	17,8	17,7	17,8	17,7	17,7	17,7
Fe (mg/kg)					15	47	22	230	20	43	20	43	40	40

Table 2. Analyses of milk substitutes used in 5 experiments.



de nadroging te bevorderen. Met de hamermolen werd het materiaal tenslotte tot de gewenste fijnheid gebracht. De hier beschreven modificatie werd in het IVO 'Hoorn' uitgevoerd.

De drooggetoaste sojabloem werd steeds uit de handel betrokken. De verhittings-temperatuur zal vermoedelijk rond 90 à 100°C zijn geweest.

Bij elke proef was een controlegroep van 10 dieren aanwezig. De dieren waren vrijwel steeds zwartbont, van het mannelijk geslacht en hadden bij het begin van de proef een leeftijd van 10 tot 14 dagen. De proeven vonden plaats in de kalvermeststal te Hoorn.

## 2.2 Voeding

De eerste weken werd 3 keer daags gevoerd. De concentratie bedroeg aanvankelijk 100 tot 125 g melkpoeder per liter kunstmelk en steeg geleidelijk tot 165 g per l. De dieren ontvingen ca. 10-11 % van het lichaamsgewicht aan vocht per dag. Tabel 1 geeft een indruk van de samenstelling van het kunstmelkpoeder tijdens de diverse proeven.

Onder 'additieven' kan men rekenen: diverse emulgatoren, vitamines, mineralen en antibiotica. Bij de proeven 4 en 5 was bovendien 1 % Tix-o-Sil aanwezig. Tussen proef- en controlegroep bestonden geen verschillen in samenstelling van de toegevoegde additieven. Alleen bij proef 4 werd ter correctie van de hoge Ca/P verhouding in de sojabloem 0,5 %  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  extra in de kunstmelk opgenomen. Tabel 2 geeft enige analyses van de kunstmelkpoeders. Het Fe-gehalte in de gemodificeerde sojabloem was steeds verhoogd en dit komt ook in tabel 2 tot uiting.

## 2.3 Waarnemingen

Elke 14 dagen werden de dieren gewogen. De laatste weging op stal vond steeds plaats 1 dag voor het slachten. In het slachthuis te Alkmaar werden de dieren levend en geslacht gewogen en door een deskundige beoordeeld op beveelsheid, vetbedekking, kleur, beenderstelsel en algemene indruk.

Bij het levende dier vond ongeveer 2 maal per maand een onderzoek plaats naar de antigene werking van het gevoerde soja-eiwit. Dit gebeurde door onderzoek van serum op de aanwezigheid van specifieke antistoffen volgens de reactie van BOYDEN (1951).

Passieve of indirecte hemagglutinatiereactie volgens Boyden

*Beginsel* Schapenerythrocieten krijgen door behandeling met looizuur het vermogen om eiwitten te adsorberen. Deze erythrocieten gaan samenklonteren (agglutineren), wanneer antiserum specifiek gericht tegen de geadsorbeerde eiwitten eraan wordt toegevoegd. De reactie is tamelijk gevoelig en de uitslag is meer kwalitatief

dan kwantitatief van belang. Er dient steeds gewaakt te worden voor specifieke reacties. De reactie is passief of indirect omdat de erythrocyet slechts een antigeen-dragende functie heeft.

*Uitvoering* Het te onderzoeken serum wordt vooraf 1 : 20 verdund met 0,2 % gelatine in fysiologische zoutoplossing. Daarna wordt een serologische verdunningsreeks gemaakt door in 10 à 15 buisjes of kuiltjes van een perspexplaat 0,4 ml van de 0,2 % gelatine-oplossing te pipetteren en in het eerste buisje 0,4 ml van de eerstgenoemde verdunde serumoplossing bij te voegen en te mengen. Uit het eerste buisje wordt 0,4 ml gepipetteerd en in het tweede gedaan en gemengd. Dit wordt vervolgd tot het laatste buisje. De aldus verkregen serumverduningen zijn dan 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160 etc.

Voeg bij ieder buisje 0,4 ml van een gewassen, gelooide en daarna met soja-eiwit gesensibiliseerde schapenerythrocyetensuspensie en lees de volgende af.

In positieve gevallen ontstaat een groot gekorrelt bezinkingsveld op de bodem van het buisje. Bij negatief resultaat is het bezinkingsveld klein en glad. Voor gradaties in de beoordeling zie STAVITSKY e.a. (1958). De verdunning van het laatste buisje met een positieve reactie wordt de titer van het serum genoemd (reciproke waarde).

Het is gewenst om tegelijkertijd een aantal van de navolgende controlereacties uit te voeren die alle negatief behoren te zijn:

1. controle of het te onderzoeken serum onbehandelde erythrocyeten niet doet agglutineren: onbehandelde erythrocyeten toevoegen aan het verdunde serum
2. controle of het antigeen (soja-eiwit) onbehandelde erythrocyeten niet doet agglutineren: soja-eiwit toevoegen aan onbehandelde erythrocyeten
3. controle of de erythrocyeten niet spontaan agglutineren: behandelde erythrocyeten toevoegen aan een 0,2 % gelatine-oplossing
4. controle of de reactie niet specifiek verloopt: soja-eiwit toevoegen aan het te onderzoeken serum (→ reactie) en daarna de gesensibiliseerde schapenerythrocyeten bijvoegen (z.g. hemagglutinatieremmingsreactie).

*Bereiding gesensibiliseerde schapenerythrocyeten* 50 ml schapenbloed wordt steriel opgevangen in 50 ml Alsever's oplossing (Oxoid). Na afcentrifugeren van een gedeelte hiervan wordt gewassen met fysiologische NaCl en gesuspendeerd in fysiologische fosfaatbuffer met pH = 7,2 (24 uur houdbaar). Hieraan wordt looizuur (1 % in fysiologische zoutoplossing) toegevoegd, waarna men 10 min. bij 37°C laat inwerken. Na wassen met fysiologische zoutoplossing wordt bij kamertemperatuur en bij een pH van 6,4 tot 7,0 gedurende 5-10 min. een verdunde antigeenoplossing toegevoegd. Daarna wassen met en suspenderen in 0,2 % gelatine. Gezorgd moet worden, dat alle oplossingen vooraf gesteriliseerd zijn.

*Bereiding van soja-antigeen* Doe 1 g sojabloem met 100 ml fysiologische zoutoplossing gedurende 15 min. in de mixer (te bewaren met 1 ml merthiolaat 1 % bij

4°C). Daarna 10 ml afcentrifugeren, filtreren en door verdunnen met fysiologische zoutoplossing de geschikte concentratie uitproberen m.b.v. bekend anti-sojaserum.

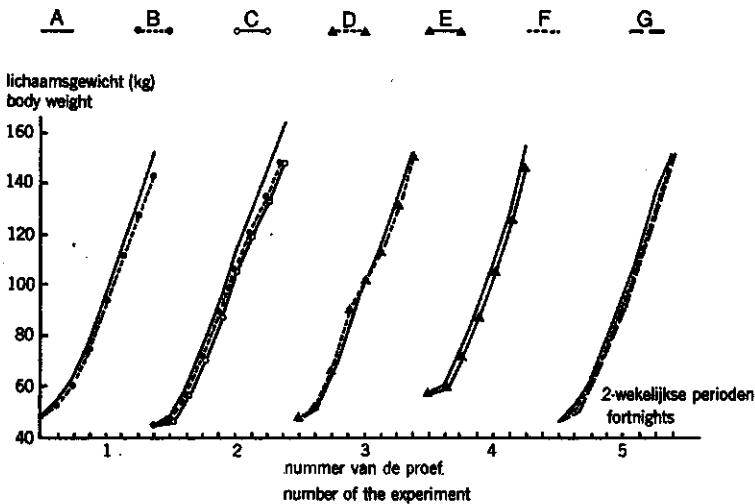
*Toepassing* Behalve voor serumtitratie kan de bovenbeschreven reactie ook dienen om de antigene eigenschappen van het (soja) eiwit te onderzoeken in vitro. Het te onderzoeken eiwit wordt dan aan de schapenerythrocyeten geadsorbeerd en in contact gebracht met serum waarvan de titer bekend is (CAMPBELL e.a., 1963).

### 3 Resultaten

Figuur 1 geeft de groeicurve weer van de groepen bij de diverse proeven.

Bij proef 2 en in mindere mate bij de proeven 1 en 4 blijft de groei onder invloed van de proeffactor iets achter vergeleken met de controlegroep. Dit is het geval bij

Fig. 1. De gemiddelde groeicurven van de proef- en controlegroepen tijdens de diverse proeven.



A controle / control

B drooggetoaste sojabloem / dry toasted soybean oil meal

C promine-d

D drooggetoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem 10 % / dry toasted and chemically modified soybean oil meal 10 %

E drooggetoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem 15 % / dry toasted and chemically modified soybean oil meal 15 %

F drooggetoaste en 30 min. geautoclaveerde sojabloem / dry toasted and 30 min. autoclaved soybean oil meal

G drooggetoaste en 60 min. geautoclaveerde sojabloem / dry toasted and 60 min. autoclaved soybean oil meal

Fig. 1. The average gains of the experimental- and control groups during the various experiments.

Tabel 3. De gemiddelde uitkomsten van de mestproeven en van het bloedonderzoek in 5 proeven.

	Drooggetoaste sojabloem	
	c	p
begingewicht (kg) / <i>initial weight (kg)</i>	49	48
eindgewicht (kg) / <i>end weight (kg)</i>	153	145
proefduur (dagen) / <i>duration of the experiment (days)</i>	102	102
groei per dag (g) / <i>daily gain (g)</i>	1023	948
kunstmelkpoeder per dier per dag (g) / <i>milkreplacer per animal per day (g)</i>	1464	1426
kunstmelkpoeder per kg groei (g) / <i>milkreplacer per kg body growth (g)</i>	1431	1505
<i>Beoordeling (levend) / Judgement before slaughtering</i>		
gewicht op slachthuis (kg) / <i>weight in slaughterhouse (kg)</i>	149	140
'transportverlies' (%) / <i>'loss by transport' (%)</i>	2,8	3,1
beveleesdheid voor / <i>muscling fore quarter</i>	7,5	6,9
beveleesdheid midden / <i>muscling loin</i>	7,5	7,2
beveleesdheid achter / <i>muscling hind quarter</i>	7,3	6,9
beveleesdheid gemiddeld / <i>muscling average</i>	7,4	7,0
vetbedekking (handelswaarde) / <i>fatness covering</i>	6,6	6,4
slijmvlieskleur (handelswaarde) / <i>color of the mucous membranes</i>	7,3	8,1 <sup>2</sup>
beenderstelsel / <i>bone quality</i>	7,4	7,4
algemene indruk / <i>general impression</i>	7,4	6,9
<i>Beoordeling na het slachten / Judgement after slaughtering</i>		
koud geslacht gewicht (+ lever (kg) / <i>weight of the carcass + liver (kg)</i>	96	90
slachtverlies (%) / <i>loss at slaughter (%)</i>	35,6	35,7
beveleesdheid voor / <i>muscling fore quarter</i>	7,0	6,4
beveleesdheid midden / <i>muscling loin</i>	7,3	6,5 <sup>2</sup>
beveleesdheid achter / <i>muscling hind quarter</i>	7,2	6,6
beveleesdheid gemiddeld / <i>muscling average</i>	7,2	6,5 <sup>1</sup>
vetbedekking (handelswaarde) / <i>fatness covering</i>	6,5	6,4
niervet (handelswaarde) / <i>perinephric fat</i>	6,7	6,5
vleeskleur (handelswaarde) / <i>color of the mucous membranes</i>	7,1	8,0
algemene indruk / <i>general impression</i>	7,2	6,5 <sup>1</sup>
<i>Bloedserumonderzoek / Analysis of bloodserum</i>		
titer (tegen eiwitten uit drooggetoaste sojabloem) gedurende de tweede helft van de mestperiode / <i>titer of antibodies against proteins from dry toasted soybean oil meal during the second part of the fattening period</i>	0	24576

Dry toasted soybean oil meal

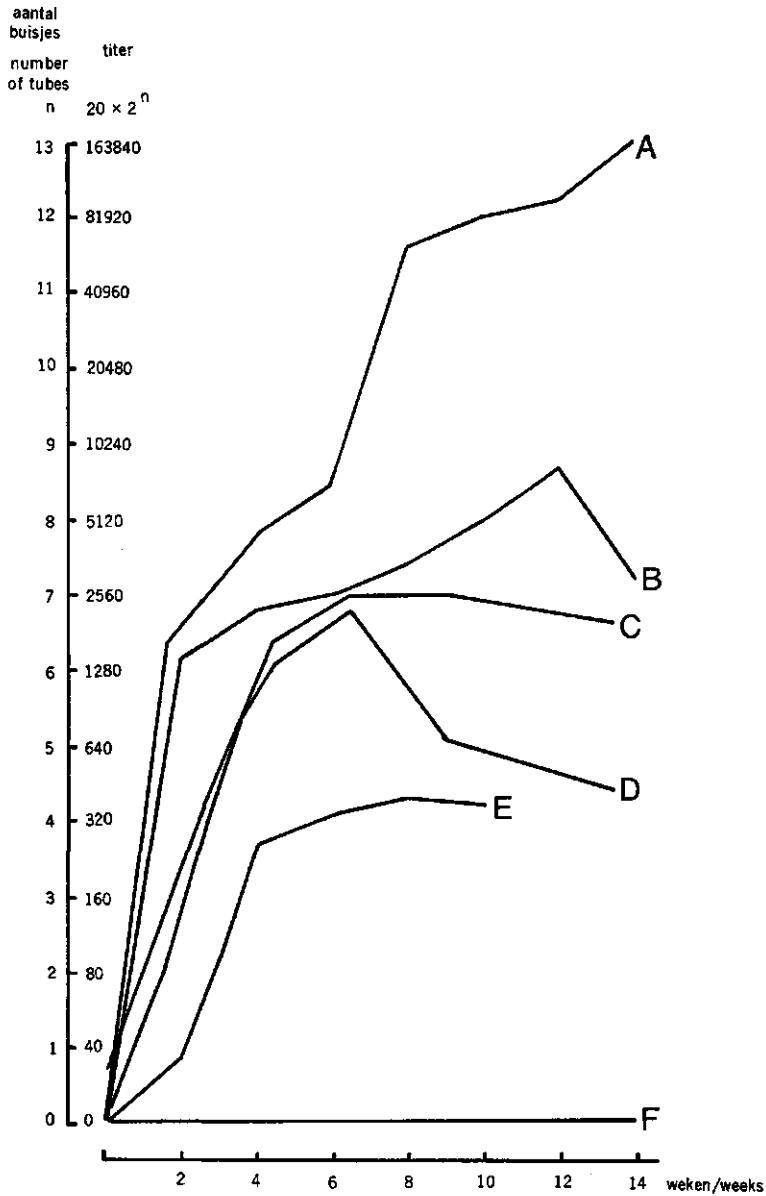
<sup>1</sup>) P < 0,10; <sup>2</sup>) P < 0,05; <sup>3</sup>) P < 0,01; <sup>4</sup>) P < 0,001 (significantie van de verschillen tussen proef-

Table 3. The average results of the fattening experiments and blood analyses in 5 experiments.

Drooggetoaste sojabloem		Promine-d		Drooggetoast en chemisch gemodificeerde sojabloem				Drooggetoaste en geautoclaveerde sojabloem		
2		b		3		4		5		
c	p	p		c	p	c	p	c	p	p
					10 %		15 %		30 min.	60 min.
45	45	45		48	48	58	58	46	46	46
165	150	149 <sup>1)</sup>		152	151	155	148 <sup>2)</sup>	151	151	149
111	111	111		97	97	88	88	96	96	96
1079	944	936 <sup>2)</sup>		1080	1068	1110	1026 <sup>4)</sup>	1091	1094	1079
1583	1548	1548		1604	1604	1613	1613	1636	1636	1636
1468	1640	1654		1486	1502	1453	1572	1500	1496	1516
159	146	145 <sup>1)</sup>		148	148	150	142 <sup>2)</sup>	144	145	143
3,7	2,7	3,2		2,8	2,4	3,2	3,9	4,0	3,7	4,3
7,2	6,3 <sup>1)</sup>	6,3 <sup>4)</sup>		6,7	6,6	5,1	4,8	5,2	5,5	4,8
7,4	6,2 <sup>1)</sup>	5,8 <sup>4)</sup>		6,6	6,5	5,3	5,0	5,3	5,7	5,1
7,4	6,1 <sup>2)</sup>	6,1 <sup>2)</sup>		6,9	6,3	5,1	4,7 <sup>2)</sup>	5,2	5,2	5,0
7,4	6,2 <sup>2)</sup>	6,1 <sup>4)</sup>		6,7	6,4	5,2	4,8 <sup>1)</sup>	5,2	5,5	5,0
7,0	7,0	7,4		7,5	7,1 <sup>1)</sup>	7,3	7,4	7,2	6,5 <sup>2)</sup>	7,1
6,8	6,8	6,8		7,0	6,5	5,1	5,3	6,1	4,0 <sup>2)</sup>	4,6
6,8	7,3 <sup>2)</sup>	7,2 <sup>2)</sup>		7,0	7,1	7,2	7,2	7,1	7,3	7,2
7,2	6,0 <sup>2)</sup>	6,0 <sup>4)</sup>		6,8	6,4	5,2	4,7 <sup>1)</sup>	5,2	5,3	4,9
104	94	92 <sup>2)</sup>		94	94	96	90 <sup>2)</sup>	91	91	91
34,6	35,6	36,5		36,5	36,5	36,0	36,6	36,8	37,2	36,4
7,3	6,0 <sup>2)</sup>	6,4 <sup>2)</sup>		6,6	6,1	5,4	4,7 <sup>2)</sup>	5,1	5,6	5,4
7,5	6,0 <sup>2)</sup>	6,0 <sup>2)</sup>		6,6	6,4	5,5	4,6 <sup>2)</sup>	5,4	5,4	5,7
8,0	6,1 <sup>2)</sup>	6,2 <sup>2)</sup>		6,6	5,9 <sup>1)</sup>	5,4	4,8 <sup>2)</sup>	5,1	5,1	5,6
7,6	6,0 <sup>2)</sup>	6,2 <sup>2)</sup>		6,6	6,1	5,5	4,8 <sup>2)</sup>	5,2	5,4	5,6
7,2	6,6	7,5		6,9	7,2	7,3	7,4	7,2	7,1	7,4
6,8	7,5	7,1		7,2	7,6 <sup>1)</sup>	7,3	7,2	8,0	9,0	8,2
7,6	6,1 <sup>2)</sup>	7,8		6,3	6,6	5,6	5,1	6,7	5,6	4,6 <sup>2)</sup>
7,6	6,0 <sup>2)</sup>	6,4 <sup>2)</sup>		6,6	6,1	5,4	4,8 <sup>2)</sup>	5,1	5,3	5,4
0	5056	102400		0	400	0	0	0	2304	1152
Dry toasted soybean oil meal		Promine-d		Dry toasted and chemically modified soybean oil meal				Dry toasted and autoclaved soybean oil meal		
				10 %		15 %		30 min. 60 min.		

antrologroep / significance of the differences between experimental and control group).

Fig. 2. De door de dieren van de verschillende proefgroepen gevormde titers gemeten tegen uitsluitend drooggetoaste sojabloem.



A promine-d (2b)

B drooggetoaste sojabloem / dry toasted soybean oil meal (2a)

Fig. 2. The titers of antibodies against dry toasted soybean oil meal from animals in the various experimental groups.

10 % drooggetoaste sojabloem, 5,5 % promine-d en 15 % drooggetoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem. Tabel 3 geeft de gemiddelde uitkomsten weer van de verrichte mestproeven en van het bloedonderzoek. Het transportverlies is berekend uit het eindgewicht te Hoorn en het gewicht op het slachthuis, 1 dag later.

Uit tabel 3 blijkt, dat behalve de groei ook de bevelesdheid bij de sojagroepen van de proeven 1, 2 en 4 wat achter is gebleven vergeleken met de controlegroepen. De proeven 3 en 5 laten daarentegen slechts weinig verschillen zien tengevolge van de proeffactor. De hoogste titers tegen drooggetoaste sojabloemantigeen werden aangetroffen in de groepen die gevoerd waren met drooggetoaste sojabloem (1 en 2a) en promine-d (2b). In proef 4 met 15 % drooggetoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem was geen titer aanwezig tegen dit eiwit, terwijl in proef 3 (10 % van hetzelfde industrieel gemodificeerde materiaal) een geringe titer aangetoond kon worden. De groei in proef 4 was slechter dan in proef 3. De afwezigheid van een titer staat dus niet borg voor een betere groei of een beter slachtproduct. De aanwezigheid van vrij hoge titers kan evenwel de groei benadelen getuige de zwakke, maar significante correlatie tussen het aantal buisjes met positieve hemagglutinatieractie en de groei ( $r = -0,34$ ;  $P < 0,05$ ).

De correlatie met de bevelesdheid was niet significant. Deze correlaties werden berekend uit de gemiddelde gegevens van alle 39 dieren, die in de onderhavige studie titers tegen soja-eiwit hadden gevormd.

Figuur 2 geeft het gemiddelde verloop weer van de hemagglutinatieractie bij toepassing van de diverse sojaproducten. Op de X-as is de tijd uitgezet. Op de Y-as is het aantal buisjes uitgezet (n) met positieve hemagglutinatieractie van de te onderzoeken sera, en de titer ( $20 \times 2^n$ ).

Chemische en thermische (vochtig warme) nabehandeling van de getoaste sojabloem verlaagt duidelijk de titer tegen soja-eiwit. Het promine-d, geïsoleerd soja-eiwit uit ongetoaste sojabloem, valt op door de grote antigene werkzaamheid. Tegen het einde van de mestperiode daalt de titer soms (2a, 5a en b). Bij het ouder worden wordt de darmwand mogelijk minder doorlaatbaar voor het antigeencomplex.

Tabel 4 geeft tenslotte een overzicht van de aminozurensamenstelling der gebruikte sojaproducten, uitgedrukt in g per 16 g N en vergeleken met magere melkpoeder.

Op methionine en proline na is het soja-eiwit redelijk vergelijkbaar met het eiwit uit magere melkpoeder. Door de autoclaaf-behandeling daalt vooral het 'available'-

---

C drooggetoaste en 30 min. geautoclaveerde sojabloem / *dry toasted and 30 min. autoclaved soybean oil meal* (5a)

D drooggetoaste en 60 min. geautoclaveerde sojabloem / *dry toasted and 60 min. autoclaved soybean oil meal* (5b)

E drooggetoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem 10 % / *dry toasted and chemically modified soybean oil meal 10 %* (3)

F drooggetoaste en chemisch gemodificeerde sojabloem 15 % / *dry toasted and chemically modified soybean oil meal 15 %* (4)



Tabel 4. Aminozuurgehalten (g/16 g N) van diverse sojabloemprodukten en van magere melkpoeder.

	Drooggetoaste en in de autoclaaf naverhitte sojabloem gedurende				Drooggetoaste en chem. gemodificeerde sojabloem	Promine-d	Magere melkpoeder
	0 min.	30 min.	60 min.	120 min.			
ruw eiwit (% van het droge materiaal / crude protein (% of dry matter))	48,60	48,58	48,38	48,46	47,00	88,50	34,60
alanine / alanine	4,2	4,2	4,3	4,4	4,4	3,7	3,4
arginine / arginine	7,4	7,1	6,8	6,0	7,7	7,8	3,6
asparaginezuur / aspartic acid	11,9	11,7	11,7	12,0	12,0	12,4	8,0
glutaminezuur / glutamic acid	20,2	19,8	20,3	20,4	18,9	22,0	22,0
glycine / glycine	4,2	4,1	4,2	4,2	4,2	4,1	2,0
histidine / histidine	2,1	2,0	2,0	2,0	2,7	2,4	2,8
isoleucine / isoleucine	4,4	4,3	4,5	4,6	5,4	4,8	5,6
leucine / leucine	7,2	7,2	7,4	7,6	7,7	7,6	9,8
lysine / lysine	6,5	5,5	5,2	4,3	6,3	5,9	7,8
'available' lysine / 'available' lysine	4,2	4,3	3,6	2,1	6,0	—	—
methionine / methionine	1,2	1,1	1,2	1,0	1,1	1,0	2,6
phenylalanine / phenylalanine	5,1	5,1	5,2	5,2	5,2	5,4	4,8
proline / proline	5,2	5,2	5,3	5,3	5,2	5,5	10,0
serine / serine	5,1	4,9	5,1	5,0	5,8	5,5	6,1
threonine / threonine	3,6	3,6	3,6	3,7	4,2	3,5	4,6
tyrosine / tyrosine	3,8	3,6	3,7	3,8	3,7	3,8	5,0
valine / valine	4,8	4,7	4,8	4,9	5,0	4,6	6,9
	<i>Dry toasted soybean oil meal autoclaved during different times</i>				<i>Dry toasted and chemically modified soybean oil meal</i>	<i>Pro-</i>	<i>Dried skimmed milk</i>

Table 4. Contents of amino acids (g/16 g N) of various soybean oil meal products and of dried skimmed milk.

lysine-gehalte, maar ook de totale lysine- en argininegehalten lopen iets terug. Door de chemische modificatie daalt de 'availability' van lysine relatief slechts gering. Bij promine-d kunnen de slechtere mestresultaten niet verklaard worden uit het aminozuurpatroon van dit eiwit. Het aminozuurpatroon zegt evenwel nog niets over de verteerbaarheid van de gebruikte eiwitten.

## 4 Bespreking

Tijdens de proeven met uitsluitend drooggetoaste sojabloem werden een aantal kalveren tympanisch. Gedacht zou kunnen worden dat het zetmeel uit de sojabloem in de dikke darm aanleiding geeft tot bacteriële fermentatie en gasvorming. Na chemische of thermische behandeling van de sojabloem werd dit verschijnsel niet meer waargenomen. Bij de eerste proef konden in het serum van de controle-kalveren antistoffen aangetoond worden tegen kunstmelkeiwitten zonder sojabloem. Dit bevestigt de waarneming van FRENS e.a. (1961). Zij zagen immers voedings-anaphylaxie optreden op kunstmelkrantsoenen bij mestkalveren. Bij de hier beschreven proeven met sojabloem is nooit anaphylactische shock opgetreden. Wel bleken na slachting de lebmaagbladen vaak oedemateus en hemorrhagisch te zijn. Dit kan een gevolg zijn van allergische weefselreacties. Met behulp van immunofluorescentie (methode volgens COONS e.a., 1950) kon namelijk worden aangetoond dat in de omgeving van de bloedinkjes antigeen-antilichaam reacties hadden plaatsgevonden. Dit werd gedaan door konijnenantirunderglobuline-serum op een weefselcoupe te brengen en na afspoelen en drogen fluorescerend (isothiocyanaat) schapen-antikonijnen-serum er bij te voegen. Na opnieuw spoelen werden dan onder de fluorescentiemicroscopie groen gekleurde veldjes waargenomen<sup>1</sup>.

In diverse groepen kwam soms enige diarree voor, maar dit symptoom is op zich niet specifiek genoeg om aan de proeffactor toegeschreven te kunnen worden.

De vorming van antilichamen tegen voedingseiwitten bleef soms achterwege (proef 4). Ook na verstrekking van aardappel-, mais-, haver- en gersteiwitten en diermeel konden geen specifieke antistoffen in het bloed van mestkalveren worden aangetoond. 15 % Getoaste sojaschroot in het mestrantsoen gaf bij varkens eveneens geen aanleiding tot vorming van antilichamen. Bij jonge konijnen gaf 20 % grondnoten- en 20 % getoaste sojaschroot in de korrels slechts bij enkele dieren zeer lage titers. Bij intraveneuze of subcutane injecties van een 10 % soja-oplossing + adjuvans daarentegen zijn bij het konijn zeer hoge titers op te wekken. Het verschil hangt uiteraard samen met de doorlaatbaarheid van de wand van het maagdarmkanaal voor op zichzelf moeilijk verteerbare eiwitbrokstukken. Ook is nog getracht met Evans blue-injecties lokale weefselbeschadigingen door allergische reacties op te sporen. Dit onderzoek werd niet voortgezet.

<sup>1</sup> Wij danken prof. dr. Cormane, destijds verbonden aan de afdeling Dermatologie van het Academisch Ziekenhuis te Utrecht voor zijn bereidwillige medewerking.

Schematisch zou men het verband tussen groei, opgewekte titer en behandeling van het sojabloemprodukt, mede op grond van de literatuurgegevens, als volgt voor kunnen stellen:

Sojabloem	Groei van het dier (c.q. de verteerbaarheid van het rantsoen)	Titers
ongetoast eiwit (promine-d) (2b)	slecht	+++
getoast (1, 2a)	minder slecht	++
getoast en nabehandeld (chem., autoclaaf) (3, 5a + b)	goed	+
getoast en te sterk nabehandeld (4)	minder goed	0

Het optimum schijnt te liggen bij toasten en 1½ uur digeren in aanwezigheid van een HCl-oplossing of toasten en 30-60 minuten naverhitten onder 1 atm. druk bij 120°C en ca. 3 cm laagdikte, waarbij de aanwezigheid van een geringe titer eerder pleit voor de biologische waarde van het eiwit (nog niet gedenatureerd) dan dat het schadelijk zou zijn voor de groei. Bij promine-d mag de verteerbaarheid van het rantsoen als slecht worden aangenomen, daar de meeste toxische stoffen, die in de inleiding zijn genoemd, in het ongetoaste materiaal nog aanwezig zullen zijn (VERMEERSCH e.a.; 1966). Afgezien van de verschillen in modificatie van de gebruikte sojabloem-producten bleek geen enkele correlatie (binnen de groepen) tussen de gevormde titer en de groei of de beveesheid significant. De eerder vermelde negatieve correlatie ( $r = -0,34$ ) tussen titer en groei is dus niet te verklaren 'vanuit het dier', maar zou een behandelingseffect kunnen zijn.

Het verschil tussen droge en vochtige verhitting kon via de hemagglutinatiereactie met behulp van bekend runder-anti-sojaserum, als volgt worden vastgesteld:

Behandeling van sojabloem (droog voorgetoast)	reactie
60 min. droog toasten bij 120°C (oven)	positief
20 min. koken in ca. 50 % waterige oplossing	negatief
15 min. in autoclaaf bij 120°C en 1 atm. overdruk (in de buitenlaag)	negatief
30 min. in autoclaaf bij 120°C en 1 atm. overdruk (in het binnenste deel)	negatief

Het bezwaar van vochtige behandelingen is vaak, dat het Fe-gehalte van het produkt gaat stijgen, hetgeen de blankheid van het vlees niet bevordert (zie tabel 2 en 3).

## Samenvatting en conclusies

Met behulp van kalvermestproeven werd getracht de invloed van verschillende behandelingen na te gaan op de voederwaarde van sojabloem. Tevens werd de vorming van antilichamen tegen het soja-eiwit (= alimentair antigeen) door het dier met behulp van serumagglutinatie onderzocht en werden diverse aminozuur-analyses uitgevoerd. Het bleek, dat soja-eiwit (promine-d), geïsoleerd uit ongetoaste sojabloem (5,5 % in kunstmelkpoeder) een ongunstig effect had op de groei en de slachtkwaliteit van het dier en een hoge titer tegen soja-eiwit deed ontstaan. Droge toasting gaf enige verbetering, maar toasten gevolgd door een matige chemische (hydrolyse) of thermische (autoclaaf) nabehandeling van de sojabloem (10 % in kunstmelkpoeder ter vervanging van magere melkpoeder) gaf nog meer verbetering in de mestresultaten vergeleken met promine-d en een verlaging van de titer. De optimale autoclaafbehandeling van droog getoaste sojabloem voor mestkalveren lag bij een temperatuur van 120°C, 1 atm. stoomdruk, ca. 3 cm laagdikte en een duur van 30-60 minuten. Een overzicht werd gegeven van de gebruikte hemagglutinatie-reactie.

### Summary and conclusions

In fattening trials with veal calves the effects of different treatments of soybean oil meal on its nutritive value were measured. The production of antibodies against the proteins of soybean oil meal given with the food, was checked through serum agglutination. Amino acid contents in the soya products were analysed as well.

Soya protein (promine-d) isolated from untoasted soybean oil meal (5.5 % in milk substitute) affected growth and slaughter quality of the animal and caused high antibody titers against soya protein.

Dry toasting of soybean oilmeal (10 % in milk substitute instead of dried skimmed milk) made some improvement, especially when followed by a light chemical (hydrolysis) or heat (autoclave) treatment, as was shown by results of fattening and lower antibody-titers compared with promine-d. The optimum in autoclaving of dry toasted soybean oilmeal for veal calves was at 120°C, under 1 atm. steam pressure, by 3 cm thickness of the layer and for 30 minutes.

The hemagglutination reaction used is described.

## Literatuur

- Adrichem, P. W. M. van en A. M. Frens 1965 Soja-eiwit als alimentair antigeen bij mestkalveren. *Tschr. v. Diergeneesk.* 90: 525.
- Boyden, S. V. 1951 The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by anti-protein serum. *J. Exptl. Med.* 93: 107.
- Bussard, L. en C. Brioux 1925 Les tourteaux. Ch. Béranger, Paris.
- Campbell, D. H., J. S. Garvey, N. E. Cremer en D. H. Sussdorf 1963 *Methods in immunology.* W. A. Benjamin, inc. Amsterdam.
- Coons, A. H. en M. H. Kaplan 1950 Localisation of antigen in tissue cells II: Improvements for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J. Exptl. Med.* 91: 1.
- Dammers, J. 1964 Verteringsstudies bij het varken. Thesis, Leuven.
- Donoso, G. O., A. M. Lewis, D. S. Miller en P. R. Payne 1962 Effect of heat treatment on the nutritive value of proteins: chemical and balance studies. *J. Sci. Food Agr.* 13: 192.
- Dysli, R. R., C. B. Ammerman, P. E. Loggins, J. E. Moore en L. R. Arrington 1967 Effects of steam heating upon the nutritive value of full fat soybeans for sheep and rats. *J. Anim. Sci* 26: 618.
- Eveleth, D. F. en A. S. Goldsby 1953 Toxicosis of chickens caused by trichloroethylene extracted soybean meal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 123: 38.
- Frens, A. M., J. van der Grift en J. Dammers 1961 Voedingsanaphylaxie bij mestkalveren. *Tschr. v. Diergeneesk.* 86: 255.
- Griminger, P., W. D. Morrison en H. M. Scott 1956 Effect of underheated soybean meal on blood coagulation of chicks. *Poultry Sci.* 35: 911.
- Ham, W. E. en R. M. Sansedt 1944 A proteolytic inhibiting substance in the extract from unheated soybean meal. *J. Biol. Chem.* 154: 505.
- Holm, E. C., D. F. Eveleth en W. S. Dinusson 1953 Trichloro-ethylene soybean meal poisoning in sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 122: 1.
- Jacquot, R., J. Matet en O. Fridenson 1947 Influence des traitements thermique industriels sur la valeur protidique des aliments. *Ann. Nutr. Alim.* 1: 157.

- Kunitz, M. 1946 Crystalline soybean trypsin inhibitor. *J. Gen. Physiol.* 30: 291.
- Liener, I. E. 1953 Soyin a toxic protein from the soybean. *J. Nutr.* 49: 527.
- McKinney, L. L.,  
F. B. Werkly,  
A. G. Eldridge,  
R. E. Campbell,  
S. C. Cowan, J. C. Picken  
en H. E. Biester 1957 S-(dichlorovinyl)-L-cysteine an agent causing fatale aplastic anemia in calves. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 3922.
- Mortimer, E. Z. 1961 Anaphylaxis following ingestion of soybean. *J. Pediat.* 58: 90.
- Peng-Yung, N.,  
W. D. Graham,  
J. S. Carver en  
J. McGinnis 1949 Correlation of nutritive value for chicks of autoclaved soybean meal with fluorescence, browning and sticky dropping. *Poultry Sci.* 28: 780.
- Potter, G. C.  
F. A. Kummerow 1954 Chemical similarity and biological activity of the saponins isolated from alfalfa and soybeans. *Science* 120: 224.
- Pritchard, W. R.,  
C. E. Rehfeld en  
J. H. Sauter 1952 Aplastic anemia of cattle associated with ingestion of trichloroethylene extracted soybean oil meal. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 121: 1.
- Ramboud, M. en  
R. Delobez 1961 Facteur antitrypsique et cuisson des tourteaux de soja. *Industr. Alim. Agric.* 78: 528.
- Sharpless, G. R.,  
J. Pearson en  
G. S. Prado 1939 Production of goiters in rats with raw and heated soybean flour. *J. Nutr.* 17: 545.
- Stavitsky, A. B. en  
E. R. Arquilla 1958 Studies of proteins and antibodies by specific hemagglutination and hemolysis of protein conjugated erythrocytes. *Int. Arch. Allergy*, 13: 1.
- Vermeersch, G. en  
F. Vanschoubroek 1966a Het mechanisme van de groeiremming veroorzaakt door rauwe sojabonen en -melen bij éénmagige dieren. *Vlaams Diergeneesk. Tsch.* 35: 201.
- Vermeersch, G. en  
F. Vanschoubroek 1966b Snelle laboratoriummethodes voor het bepalen van een optimale verhitting van sojabonen en -melen. *Vlaams Diergeneesk. Tsch.* 35: 285.
- Wells, H. G. en  
Th. B. Osborne 1911 The biological reactions of the vegetable proteins. I. Anaphylaxis. *J. of Infect. Diseases* 8: 66.
- Wilgus, H. S.,  
F. X. Gassner, A. R. Patton  
en R. B. Gustavson 1952 The goitrogenicity of soybean. *J. Nutr.* 22: 43.