

VETBEPALING IN VISCHMEEL

DOOR

Dr. G. B. VAN KAMPEN EN Dr. L. WESTENBERG *)

Volgens voorschrift van de officiële methoden die in gebruik zijn bij het onderzoek van veevoedermiddelen, geschiedt de bepaling van het vetgehalte in vischmeel volgens de methode BERNTROP.¹⁾ Daarbij wordt, zooals bekend is, het materiaal, nadat de grootste hoeveelheid vet door directe extractie met aether verwijderd is, gedurende eenigen tijd met verdund zoutzuur gekookt. De na filtratie zuurvrij gewasschen en gedroogde rest wordt dan opnieuw met aether geëxtraheerd.

De op deze wijze gevonden vetgehalten zijn bij vischmeel gewoonlijk 1,5—3 %²⁾ hooger dan het door rechtstreeksche extractie gevonden vetgehalte. Men heeft die hoogere waarde als de meest juiste beschouwd, uitgaande van de veronderstelling dat eerst door het koken met zoutzuur het vet, dat men zich in de dierlijke weefsels opgesloten dacht, voor het extractiemiddel beschikbaar kwam en dat dus het door eenvoudige extractie gevonden vet niet met het ware vetgehalte in overeenstemming was.

Dezelfde opvatting vindt men gehuldigd in een onderschrift van de redactie van de *Chemiker-Zeitung* naar aanleiding van een artikel door WEIDMAN en METZGER³⁾ over de bepaling van vetachtige stoffen in voedermiddelen. Daarin wordt gezegd: „Ähnliche Unterschiede im Endergebnis erscheinen möglich, wenn bei einem Prüfmaterial, z.B. Futtermittel, die Fett- und Ölteilchen von Begleitstoffen, wie Eiweiss, Stärke und dgl. teilweise umhüllt sind. Die direkte Ätherextraktion wird in diesem Falle weniger „Fett“ ergeben als die Kombinationsmethode, weil bei letzterer die umhüllten Fett- und Ölteilchen unter dem Einflusse der sauren Hydrolyse freigelegt und der Lösung durch Äther zugänglich gemacht werden.“

Zooals hieronder nader zal blijken is, in het bijzonder bij vischmeel en diermeel, de zaak niet zoo eenvoudig als uit de verklaring van de redactie van de *Chemiker-Zeitung* zou volgen.

¹⁾ *Zeitschr. angew. Chem.* 15, 1902, 121.

²⁾ Bij haringmeel soms nog meer.

³⁾ Zur Bestimmung des Rohfettes in Futtermitteln. *Chem. Ztg.* 57, 1933, 363.

*) Dit onderzoek is verricht aan het Rijkslandbouwproefstation voor veevoederonderzoek te Wageningen.

Enkele gegevens zijn reeds vermeld in: G. B. VAN KAMPEN. Enkele ervaringen bij de vetbepaling in pers- of extractieresten van oliehoudende zaden. Verslagen van landbouwkundige onderzoekingen N°. 43, 1937, 313.

Ook BERNTROP zelf heeft blijkbaar alleen gedacht aan het *insluiten* van vet, waar zijn methode moest dienen ter bepaling van het vetgehalte van brood, waarin het vet, ook volgens de opvatting van WEIBULL, tengevolge van het bakken, door dextrine en zetmeel is ingesloten. Er zou dus eenvoudig een vertraging van de extractie plaats hebben, hetgeen bevestigd werd door het feit dat na 160 uur extraheeren met aether het vet uit het brood nagenoeg volledig in oplossing was gegaan.

Nu blijkt vischmeel zich in dit opzicht anders te gedragen. Een monster Engelsch vischmeel, waarvan het vetgehalte volgens BERNTROP 4,3 % bedroeg, gaf na 102 uren extraheeren met aether 2,65 % vet, welke hoeveelheid na nog eens 37-urige extractie niet meer toenam. Een ander monster vischmeel dat volgens BERNTROP 11,4% vet bevatte, gaf na 75 uren extraheeren met aether 9,26% vet. Na nog eens 37 uren extraheeren werd slechts 0,1 % vet méér gevonden.

Dat verder de hoeveelheid van de in het extractiemiddel in oplossing gebrachte stof bij vischmeel geen maatstaf is voor de hoeveelheid aanwezig vet, blijkt al dadelijk hieruit dat de grootte van de na verdamping van het extractiemiddel achterblijvende rest bij dit voedermiddel in hooge mate afhankelijk is van de gebruikte extractievloeistof, zooals uit de volgende cijfers blijkt:

„Vet'gehalte van pilchardmeel

Bij extractie met:	N°. 1	N°. 2	N°. 3	N°. 4
Petroleumaether 40—60°	4,0	3,3	—	—
Aether (gewone extractie)	4,1	3,3	3,8	4,6
CCl ₃ (kamertemperatuur)	6,4	5,5	—	—
Aether (Berntrop)	7,2	6,4	7,4	8,4
CCl ₃ (kooktemperatuur)	7,8	7,1	7,5	9,6
C ₂ HCl ₃ (kooktemperatuur)	10,0	10,1	10,9	13,8

Door extractie met tetrachloorkoolstof bij kooktemperatuur en vooral met trichlooraethyleen bij kooktemperatuur worden dus zelfs nog hogere cijfers voor het extract verkregen dan met de methode BERNTROP en de vraag dringt zich onmiddellijk op wat men nu eigenlijk als het juiste vetgehalte moet beschouwen.

Deze vraag is ook van overwegend praktisch belang waar in verschillende landen en zelfs in verschillende laboratoria in hetzelfde land bij de vetbepaling verschillende extractiemiddelen worden gebruikt. Herhaaldelijk zijn bij den handel in vischmeel moeielijkheden ondervonden tengevolge van het feit dat in het buitenland het vetgehalte van dat product wordt bepaald door eenvoudige extractie. zonder het materiaal met zoutzuur te koken. Dit geldt voor

de voornaamste leveranciers van vischmeel: Noorwegen en Noord-Amerika. Daar wordt dus steeds enkele procenten minder vet gevonden.

Nu zou een hooger vetgehalte, zooals de Nederlandsche proefstation-analyse oplevert, voor den handel geen bezwaar zijn, ware het niet dat in het algemeen het vet van het vischmeel als een voor de voeding ongewenscht bestanddeel wordt beschouwd; wat de voeding aan varkens betreft met het oog op de kwaliteit van de slachtproducten en bij vervoeding aan pluimvee in verband met den smaak van de eieren. Nu zijn er, wel is waar, resultaten van proefnemingen die aangetoond hebben, dat, mits met de noodige voorzorgen vervoederd, die slechte invloed niet of nauwelijks merkbaar is, maar men blijft in de praktijk toch de voorkeur geven aan vischmeelen met een betrekkelijk laag vetgehalte, nl. ongeveer 5—6 %, hetzij dat ze afkomstig zijn van witvisch, die van nature een laag vetgehalte heeft, dan wel dat ze verkregen zijn door extractie van vetrijke vischsoorten. Met dien eisch van de praktijk heeft de handel natuurlijk rekening te houden. Daarom wordt de garantie voor vet bij vischmeelleveranties bij voorkeur zoo laag mogelijk gesteld. De betrokken handel weet ook langzamerhand wel dat, de buitenlandsche analyse als basis genomen, de vetgarantie bij verkoop in Nederland met ± 3 % verhoogd moet worden ten einde voldoende zekerheid te hebben geen moeilijkheden te krijgen, maar voor wie hiervan niet op de hoogte is, blijft de mogelijkheid van financiële schade bestaan.

Om een inzicht te verkrijgen in den aard van het volgens de methode **BERNTROP** verkregen meerdere vet, zijn van verschillende vischmeelen, zoowel van het door directe extractie verkregen vet als van de na koken met zoutzuur geëxtraheerde fractie, de voornaamste eigenschappen bepaald. (Tabel I).

Uit deze gegevens blijkt, dat het vet van de tweede extractie zich vooral door het hooge gehalte aan vetzuren onderscheidt. Verder is het gehalte aan onverzeepbare bestanddeelen meestal geheel anders dan van het vet van de eerste extractie, hetgeen de conclusie uit het resultaat van de langdurige aetherextractie, nl. dat we niet te doen hebben met vet dat alleen mechanisch is ingesloten en zodoende onbereikbaar voor het oplosmiddel, bevestigt. Bij deze conclusie nemen we aan dat het onverzeepbare gedeelte door koken met zoutzuur, wat hoeveelheid betreft, niet belangrijk veranderd wordt, hetgeen door ons nog afzonderlijk werd bevestigd.

Wat de jood-additiegetallen betreft, is het van belang op te merken dat deze over het algemeen bij de tweede fractie lager zijn dan bij de eerste; op de beteekenis daarvan in verband met ons betoog komen wij nog terug.

Wat nu het hooge vetgehalte betreft, gevonden bij extractie van het vischmeel met tetrachloorkoolstof, moge er aan herinnerd worden dat door

TABEL I

Vischmeel soort	% vet	Zuur- getal	Ester- getal	% onver- zeepbare best.	J-add. get. Wys	n _D 40°
Pilchardmeel	1. 4,2	6,4	182	7,5	89	1. 4702
	2. 3,0	140	81	3,3	77	1. 4619
Witvischmeel	1. 3,8	34,2	155	7,4	134	1. 4774
	2. 1,3	128	63	13,8	115	1. 4727
Pilchardmeel	1. 4,3	17,4	180	7,1	78	1. 4715
	2. 3,4	159	56	—	71	1. 4591
Haaienmeel	1. 10,7	9,0	162	1,8	125	1. 4702
	2. 1,6	94	58	19,3	123	1. 4705
Pilchardmeel	1. 3,3	15,4	186	11,6	77	1. 4717
	2. 3,2	159	45	4,5	72	1. 4597
Pilchardmeel	1. 3,2	20,7	187	4,7	71	1. 4697
	2. 3,2	150	61	4,1	72	1. 4602
Pilchardmeel	1. 3,9	18,7	171	8,7	95	1. 4729
	2. 2,9	148	71	4,3	87	1. 4609

1. = vetfractie verkregen door extractie met aether.

2. = vetfractie verkregen door koken van de met aether geëxtraheerde stof met zoutzuur en opnieuw extraheeren met aether.

één van ons bij een onderzoek naar de oorzaak van de Brabantsche veenziekte ¹⁾ is aangetoond dat een ander gechloreerd extractiemiddel, nl. het trichloor-aethyleen, de eigenschap bezit om, in tegenstelling met benzine en aether, in sterke mate fosphatiden op te lossen.

We hebben daarom nagegaan hoe het gesteld was met het gehalte aan fosphatiden van het tetrachloorkoolstof-extract.

TABEL II

Extractiemiddel	Visch- meel 1	Visch- meel 2
Petroleumaether (% extract)	4,02	3,26
Daarna met CCl ₄ (bij kooktemperatuur)	3,77 ²⁾	3,80 ²⁾
Hiervan is lecithine	1,39	1,44
Daarna met alcohol, hiervan is lecithine	1,57	1,49
Daarna met aether (na koken met HCl)	0,43	0,71
Alcohol (rechtstreeks) hiervan is lecithine	2,76	2,82

¹⁾ G. B. VAN KAMPEN. De Brabantsche veenziekte. *Verlagen van landbouwk. onderz. der Rijkslandbouwproefstations*, XXXIII, 1928, 76.

²⁾ is bij 100° C. vast.

Zooals men uit tabel II kan zien wordt door extractie met CCl_4 ongeveer de helft verkregen van het totaal gehalte aan phosphatiden, zooals dit berekend kan worden uit het P-gehalte van het alcoholextract. Die berekening is geschied als lecithine, door voor het P-gehalte van deze verbinding 3,94 % aan te nemen. De P-bepaling geschiedde volgens de methode v. LORENZ in de met salpeterzuur zuur gemaakte oplossing, verkregen na gloeien van de extractie-residu's met een mengsel van watervrije soda en kaliumnitraat.

Gingen we daarna de met CCl_4 uitgetrokken vischmeelen eenige malen met alcohol van 96 % extraheeren, dan werd nog eens een ongeveer gelijke hoeveelheid lecithine gevonden; de som van de met deze beide extracties gevonden hoeveelheden lecithine komt vrijwel overeen met de hoeveelheid lecithine die door rechtstreeksche extractie met alcohol verkregen is.

Uit de verkregen gegevens meenen wij te mogen afleiden dat de bij vischmeel na koken met zoutzuur verkregen „vet”-fractie hoofdzakelijk van phosphatiden en overeenkomstige verbindingen afkomstig is. Hierop wijst in de eerste plaats het hooge zuurgetal. Verder moet, als deze opvatting juist is, na verwijdering van de phosphatiden met alcohol, bij de tweede extractie, na koken met zoutzuur, belangrijk minder vet gevonden worden dan de tweede fractie volgens BERNTROP aangeeft. Dit is inderdaad het geval, zooals uit regel 3 en 4 van tabel III blijkt.

TABEL III

	Pilchard meel	Wit visch meel	Haaien meel	Pilchard meel	Licht haring-meel	Schol-meel	Donker haring-meel	Pilchard meel
1. 1e aether extract . . .	4,12	4,02	10,78	3,34	5,36	3,57	13,60	3,65
2. Lecithine (uit het alcoholisch extract) . . .	2,76	1,81	2,35	2,82	1,31	1,28	2,55	2,46
3. 2e aether extract, na extr. met alcohol en koken met HCl . . .	0,76	0,08	0,10	0,80	0,12	0,16	0,18	—
4. 2e aether extract (volgens Berntrop) . . .	2,97	1,30	1,60	3,18	3,74	1,26	2,70	3,65

Door het extraheeren met alcohol is dus van de BERNTROP-fractie een gedeelte verdwenen dat schommelt tusschen ongeveer 75 en 97 %, zoodat deze fractie wel in hoofdzaak uit phosphatiden e.d. moet bestaan.

Wanneer men nu een berekening maakt met hoeveel phosphatide (als lecithine) de cijfers die in tabel III voor de BERNTROP-fractie vermeld zijn,

overeenkomen, dan vindt men gehalten, die slechts ten deele overeenstemmen met de lecithine-gehalten, berekend uit het alcoholextract, zooals blijkt uit de volgende cijfers:

	Lecithine, berekend uit:	
	Berntrop- vetfractie	P-gehalte van alcohol- extract
Pilchardmeel	3,20	2,76
Witvischmeel	1,76	1,81
Haaienmeel	2,17	2,35
Pilchardmeel	3,45	2,82
Licht haringmeel	5,24	1,31
Scholmeel	1,60	1,28
Donker haringmeel	3,65	2,55

De uit de BERNTROP-vetfractie berekende gehalten zijn verkregen door van deze fractie (regel 4, tabel III) af te trekken de percentages van regel 3, tabel III, en het verschil te vermenigvuldigen met 100 : 69. Men kan nl. de vetzuurrest van het lecithine-molecuul bij benadering op 69 % stellen door aan te nemen dat hierin een palmitine- en een oliezuurrest voorkomen.¹⁾

Bij het haringmeel zijn de uit het P-gehalte van het alcoholextract afgeleide lecithinecijfers opvallend lager; bij de andere vischmeelen kan men van een vrij goede overeenstemming spreken, waarbij men echter dient te bedenken dat de factor 100 : 69 tamelijk hoog genoemd moet worden, omdat tal van phosphatiden bij hydrolyse minder dan 69 % vetzuur geven. Alles wijst er dan ook op dat er nog andere stoffen in vischmeel voorkomen, vrij van phosphorus, die bij koken met zoutzuur in aether oplosbare stoffen, t.w. vetzuren, doen ontstaan. Dergelijke stoffen zijn bv. de cerebrosiden en de sulfatiden. Cerebrosiden zijn glucosideachtige verbindingen, die bij hydrolyse een suiker, (galactose), een base, (sphingosine) en een vetzuur opleveren; de sulfatiden zijn te beschouwen als lipoiden waarin de P door S is vervangen. Voor de bovengenoemde verschillen bestaat dus een redelijke grond.

Indien men dan ook de door alcohol verkregen fractie door koken met zoutzuur hydrolyseert, verkrijgt men belangrijk meer in aether oplosbaar vet dan uit de berekening via het gehalte aan phosphatiden, afgeleid uit het P_2O_5 -gehalte, volgt.

Duidelijk is dit b.v. het geval bij het lichte haringmeel (zie tabel III). Hier bedraagt het alcoholisch extract (na extractie met aether) 16,7 %.

¹⁾ Zie bv. Monographs on biochemistry. MACLEAN. *Lecithin and allied substances*. 1918.

Dit geeft na koken met zoutzuur een hoeveelheid vet van 3,24 %. De met alcohol geëxtraheerde rest gaf na koken met zoutzuur nog 0,16 % vet; samen dus 3,40 % vet. Zooals verwacht mocht worden, is het tweede aetherextract volgens **BERNTROP**, nl. 3,74 %, hiermede in vrij goede overeenstemming. Daarentegen vindt men door berekening uit het lecithine-gehalte slechts $1,31 \times 0,69 + 0,12 = 1,02$ % vet.

Daar men bij de vetbepaling bij voorkeur een methode zal kiezen die het werkelijke vetgehalte zooveel mogelijk benadert, zal de methode **BERNTROP** bij verschillende producten dienen te worden toegepast, aangezien men gewend is de daarbij verkregen vetzuren tot het „vet” te rekenen.

Wat het vischmeel betreft, — waarvan men het vet als een ongewenscht bestanddeel beschouwt — vertoont het vet van de 2de extractie geen ongunstiger eigenschappen dan dat van de 1ste, hetgeen afgeleid mag worden uit de joodadditiegetallen, vermeld in tabel I, waarbij men nog in aanmerking moet nemen dat die van fractie 1 betrekking hebben op vet; die van fractie 2 op vetzuur. Zou men de eerste cijfers op vetzuren omrekenen, dan zouden ze nog ongeveer 5 % hooger worden.

In overeenstemming met het algemeen gebruik zou het naar onze meening dan ook aanbeveling verdienen om hier de eenvoudigste methode te kiezen, waarom wij er de voorkeur aan zouden geven om bij de vetbepaling in vischmeel de methode **BERNTROP** te vervangen door de extractie met aether.