

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION VOOR VEEVOEDERONDERZOEK
TE WAGENINGEN

ENKELE ERVARINGEN BIJ DE VETBEPALING IN
PERS- OF EXTRACTIERESTEN
VAN OLIEHOUDENDE ZADEN

DOOR

Dr. G. B. VAN KAMPEN

(Ingezonden 24 Juni 1937)

Volgens de methoden van onderzoek aan het Rijkslandbouwproefstation voor veevoederonderzoek te Wageningen geschiedt de vetbepaling in voedermiddelen door extractie met water- en alcoholvrijen aether bij kooktemperatuur en de duplobepaling in den regel met tetrachloorkoolstof bij kamertemperatuur. Daarnaast wordt bij voedermiddelen van dierlijken oorsprong, zooals dier- en vischmeel, benevens bij nog eenige andere producten, de methode-BERNTRÖP toegepast, waarbij, indien noodzakelijk, ook vóór het koken met zoutzuur met aether wordt geëxtraheerd. De practijk heeft door duizenden van analyses bewezen, dat de resultaten van de beide eerstgenoemde werkwijzen in het algemeen goed overeenstemmen. Daarbij speelt echter de keuze van het extractiemiddel een belangrijke rol.

Het is een bekend feit, dat uit eenzelfde product, met verschillende extractiemiddelen behandeld, verschillende hoeveelheden „vet” in oplossing kunnen gaan en het is slechts de vraag wat men onder „vet” te verstaan heeft. Wat men ten slotte als vet weegt, is, behalve van het extractiemiddel, ook afhankelijk van den aard van het geëxtraheerde materiaal. In de meeste extractiemiddelen gaan, naast de eigenlijke glyceriden, dan wel hunne splitsingsproducten, ook kleurstoffen, was- of harsachtige stoffen en in sommige gevallen ook koolhydraten in oplossing. Dit is dan ook de reden dat op de analyseverslagen van het proefstation te Wageningen steeds gesproken wordt van „vetachtige stoffen”.

Wanneer men dus bepalingen van het vetgehalte, door verschillende laboratoria verricht, wil vergelijken, is het noodzakelijk dat men het gebruikte extractiemiddel kent en verder tevens de gevolgde methode. Vooral bij handelsanalyses, waar, bij verkoop met een bepaalde garantie, dikwijls cijfers van buitenlandsche laboratoria ten grondslag liggen, springt het belang van éenzelfde analysemethode, ter juiste beoordeeling van de verkregen uitkomsten, duidelijk in het oog. Een treffend voorbeeld hiervan

vormen de moeilijkheden, die voornamelijk voor den handel in vischmeel zijn voortgekomen uit verschillende bepalingswijzen van het vet. Terwijl de voornaamste vischmeel-exporteerende landen: Noorwegen, Noord-Amerika, hunne garanties voor het vetgehalte baseeren op de gewone extractie, past het Nederlandsche proefstation bij de vetbepaling in vischmeel de methode-BERNTROP toe, waardoor een uitkomst verkregen wordt, die 1,5—3 % hooger ligt. In sommige gevallen is het verschil nog grooter. Talloos zijn de moeilijkheden, die dit voor den handel heeft opgeleverd. Dat komt omdat men zich bij de beoordeeling van vischmeel op het standpunt stelt, dat het vet van dit voedermiddel als een voor de voeding ongewenscht bestanddeel is te beschouwen. Dit is in overeenstemming met de ervaringen van de practijk, waar men bij de varkens- en pluimveevoeding een minder gunstigen invloed wat betreft de kwaliteit van de slachtproducten en de smaak van de eieren te vreezen heeft.

Wij hebben het voorbeeld van het vischmeel genoemd ter illustratie van de belangrijke verschillen, die bij de vetbepaling kunnen optreden al naar gelang van de gevolgde methode. Dit geldt eveneens, zij het dan ook in mindere mate, voor de vetbepaling in de bijproducten der olie-industrie en het loont de moeite na te gaan welke methode voor de vetbepaling in deze producten als de meest rationeële beschouwd moet worden, wanneer men zich op het standpunt stelt, dat dat vetgehalte het meest juiste is, hetwelk met een bepaald extractiemiddel het hoogste cijfer geeft, zooals immers het motief voor de toepassing van de methode-BERNTROP bij bepaalde voedermiddelen geweest is. Dit standpunt consequent doorvoerende, zou men, naar aanleiding van de cijfers in tabel I, zich kunnen afvragen waarom men bij de vetbepaling in vischmeel niet de extractie met tetrachloorkoolstof bij kooktemperatuur zou toepassen.

TABEL I

Extractiemiddel.	Pilchardmeel n°. 4028.	Pilchardmeel n°. 4142.
	Vetgehalte in %.	
Petroleumaether 40—60	4,02	3,26
Aether (water- en alcoholvrij)	4,12	3,34
CCl ₄ (kamertemperatuur)	6,40	5,53
Aether (volgens BERNTROP)	7,12	6,33
CCl ₄ (kooktemperatuur)	7,84	7,06

Deze geeft nl. een „vet“-gehalte, dat nog 0,7 % hooger is dan met de methode-BERNTROP wordt verkregen.

Maar ook de tetrachloorkoolstof bij kooktemperatuur schijnt nog niet in alle gevallen een maximum-extract te geven. Zoo werd bij twee monsters vischmeel door extractie met trichlooraethyleen bij kooktemperatuur een nog aanzienlijk hooger vetgehalte gevonden:

TABEL II

Extractiemiddel.	Vischmeel n°. 2415.	Vischmeel n°. 2496.
	Vetgehalte in %.	
Aether (volgens BERNTRUP)	7,4	8,4
CCl ₄ (kooktemperatuur)	7,5	9,6
C ₂ HCl ₃ („)	10,9	13,8

En waarschijnlijk zijn er wel andere oplosmiddelen, die nóg hogere uitkomsten geven. Men spreekt dan ook in Duitschland van „scharfe” extractiemiddelen, waardoor o. a. het van groote biologische beteekenis zijnde vetphosphatide-sterinecomplex wordt aangetast. Wij zullen hierop thans niet verder ingaan, omdat wij dan buiten het bestek van deze mededeeling zouden komen.

De vetbepaling volgens de aether-extractiemethode, die te Wageningen gevolgd wordt, komt overeen met die, welke is vastgesteld door het Verband der landwirtschaftlichen Versuchs-Stationen in Duitschland ¹⁾. Eveneens is deze methode aangenomen door de Amerikaansche A. O. A. C. ²⁾ voor de vetbepaling in granen en veevoeder, door de Rijksontledingslaboratoria en laboratoria erkend door het Ministerie van Landbouw in België ³⁾, terwijl zij tot het jaar 1928 ook in Engeland werd gevolgd. In dat jaar is in Engeland de extractie door middel van petroleumaether (kooktemperatuur 40—60° C.) ingevoerd ⁴⁾, waarbij het gedurende 3 à 4 uren geëxtraheerde materiaal met zand wordt aangewreven, waarna opnieuw gedurende 1 uur wordt geëxtraheerd.

Ongetwijfeld biedt de petroleumaether-extractie voor de practijk van het onderzoek vele voordeelen. In de eerste plaats is de prijs van petroleumaether slechts ongeveer $\frac{3}{4}$ van dien van aether. Verder kan men het handels-

¹⁾ P. KRISCHE, Die Untersuchung und Begutachtung von Düngemitteln, Futtermitteln, Saatwaren und Bodenproben. Zweite Auflage, 1929.

²⁾ Methods of analysis of the Association of official agricultural chemists. Third edition, 1930.

³⁾ Aangenomen methoden voor het ontleden van meststoffen en veevoeder, 1936. Ministerie van Landbouw, Koninkrijk België.

⁴⁾ Statutory rules and orders, 1928, n°. 421. Fertilisers and feeding stuffs.

product dadelijk gebruiken, terwijl de aether door destillatie over chloorcalcium en over natrium eerst van water en van alcohol bevrijd moet worden. Ten slotte kan bij het gebruik van petroleumaether het vóórdrogen van de te extraheeren stof vervallen, hetgeen bij het toepassen van aether als extractiemiddel noodzakelijk is en dat bovendien, om oxydatie van het vet te voorkomen, in speciale toestellen in een lichtgas- of waterstofatmosfeer dient te geschieden. De resultaten, die bij gebruik van petroleumaether bij de vetbepaling in verschillende voedermiddelen worden verkregen, zijn in het algemeen in zeer goede overeenstemming met die van de aether-extractie. Uit de cijfers in tabel III is af te leiden, dat er hoogstens een zeer gering verschil naar den hooger kant bij den aether bestaat. De bij de aether-extractie verkregen cijfers worden hooger, indien men de voorloopig ge-extraheerde stof nog eens met zand aanwrijft. In de gevallen, waarin dit geschied is, is dit duidelijk te constateeren.

TABEL III

N ^o .	Aard van het voedermiddel.	Petroleum-aether.	Aether.	Aether (met zand).	CCl ₄		BERN-TROP.
					Kamer-temp.	Kook-temp.	
	<i>Lijnkoek :</i>						
1537	murwe . . .	14,6	14,7	—	15,3	—	—
1549	inl.	—	5,0	5,1	4,9	—	5,9
1597	-meel	—	8,2	8,3	8,3	—	9,1
1608	schilfers . .	—	6,5	6,7	6,6	—	7,5
1799	voorpers . .	—	6,0	6,3	5,8	—	6,8
1656	11,0	11,2	—	11,3	11,2	—
2292	Amerik. . . .	—	5,4	—	5,3	—	5,8
4578	15,7-16,1 ¹⁾	16,2	16,8	—	—	—
E.O. 619	12,0-12,2 ¹⁾	12,4	12,7	12,5	—	—
	<i>Grondnotenk.:</i>						
1530	7,0	7,0	—	7,4	—	—
1512	-meel	—	7,4	—	7,2	—	—
1569	8,1	8,1	—	8,3	8,2	—
1749	—	7,9	8,1	7,8	—	8,4
1887	schilfers . .	—	10,2	10,4	10,2	—	10,8
2189	Oost-Afrik. .	—	2,7	—	—	—	4,3
E.O. 638	voorslag . .	7,1	7,2	7,7	—	—	8,2
	<i>Cocoskoek :</i>						
1529	13,6	—	—	13,7	—	—
1739	Indische . .	—	8,9	9,5	8,6	—	10,2
1896	Manilla . . .	—	9,3	9,8	9,0	—	10,6
1622	6,2	6,2	—	6,1	6,3	7,5
1614	6,0	6,0	—	6,1	6,2	—

¹⁾ Bepaald door aanwrijven met zand.

N ^o .	Aard van het voedermiddel.	Petro-leum-aether.	Aether.	Aether (met zand).	CCl ₄		BERN-TROP.
					Kamer-temp.	Kook-temp.	
E.O. 639	voorslag . . .	6,5	6,7	7,7	—	—	7,5
6544	-meel	—	8,2	8,9	—	—	—
6964	-meel	—	12,1	12,8	—	—	—
	<i>Palmpitkoek :</i>						
1528	9,1	9,3	—	9,3	9,3	9,6
2119	inl.	—	6,7	7,0	6,6	—	7,6
1006	-meel	4,6	4,9	—	4,9	4,9	5,3
E.O. 640	voorpers . . .	6,1	6,1	6,7	—	—	6,7
	<i>Sojakoek :</i>						
1440	schroot . . .	2,0	2,1	—	2,1	—	4,1
1441	"	0,5	0,5	—	0,5	1,1	2,1
1442	"	5,6	5,8	—	5,8	6,4	7,5
1669	—	5,9	—	—	—	7,1
1583	-meel	—	0,4	—	—	—	2,1
1588	schroot . . .	—	0,7	—	—	—	2,3
2422	voorslag . . .	—	4,7	—	4,7	—	6,0
	<i>Sesamkoek :</i>						
1945	15,4	15,8	15,9	15,3	—	16,4
1008	-meel	6,6	7,3	—	6,7	6,9	7,5
	<i>Katoenzaad-meel . . .</i>	—	8,5	8,6	8,6	—	9,8
	<i>Cacaokoek . . .</i>	8,8	9,0	—	9,1	—	10,0
	<i>Murumuru-koek . . .</i>	7,7	7,9	—	—	—	8,8
	<i>Babassukoek :</i>						
976	schilfers . . .	5,8	6,3	—	6,1	6,2	—
4335	bruine	—	8,6	—	8,9	—	—
	<i>Illipekoek :</i>						
2614	schilfers . . .	12,6	—	—	—	—	14,0
	<i>Kanariezaad :</i>						
1961	7,0	7,5	—	7,5	7,5	—
889	8,1	8,5	—	—	8,1	—

Opmerkelijk zijn de groote verschillen, die bij cocoskoek en -meel verkregen worden, waar de cijfers bij aanwrijven met zand 0,5—1 % hooger zijn. Hierbij is een zeer harde voorperskoek (E.O. 639) en het valt op dat een dergelijk groot verschil eveneens bestaat bij de nummers E.O. 638, een harde voorpers-grondnotenkoek, en bij E.O. 640, een harde voorpers-palmpitkoek. Omtrent den invloed van het aanwrijven met zand van de voorloopig

geëxtraheerde stof met petroleumaether beschikken wij slechts over een paar gegevens.

De cijfers, gevonden bij de vetbepaling met CCl_4 bij kamertemperatuur, wijken in het algemeen niet af van die, bij de aetherextractie verkregen. Enkele malen is ook met CCl_4 bij kooktemperatuur geëxtraheerd, hetgeen niet tot verschillen aanleiding geeft.

Zooals te verwachten was, vertoonen de cijfers, verkregen met de methode-BERNTRÖP, een geheel ander beeld. Zij liggen zonder uitzondering belangrijk hooger. Voor verschillende voedermiddelen was hierop reeds geruimen tijd geleden de aandacht gevestigd, en wel door een onderzoek, in het jaar 1904 verricht aan het Rijkslandbouwproefstation te Hoorn¹⁾. Hierbij werd voor grondnotenkoek een uitzondering geconstateerd, waar het vetgehalte volgens BERNTRÖP en de aetherextractie gelijk bleken. Dit is door onze cijfers niet bevestigd. De door ons bij grondnotenkoek gevonden verschillen zijn van dezelfde orde als bij de overige voedermiddelen. Zelfs bedraagt het verschil bij E.O. 638, een voorperskoek, 1 %. Het aanwrijven met zand had hier reeds een verhooging van 0,5 % ten gevolge.

Waarvan echter bij bedoeld onderzoek geen melding gemaakt is, zijn de sojaproducten. Het groote verschil tusschen het aether-vetcijfer en dat volgens BERNTRÖP is opvallend. Het is in één geval zelfs 2 % en daarmede nagenoeg op één lijn te stellen met het gedrag van de vischmeelen. Er is dus eigenlijk geen redelijke grond aan te voeren waarom men bij de vetbepaling in vischmeel de methode-BERNTRÖP wél toepast en bij sojakoek en -meel niet.

De methode-BERNTRÖP is oorspronkelijk voor de vetbepaling in brood aangegeven. Later is zij ook voor verschillende eiwitrijke producten toegepast, waarbij men aannam, dat eerst door het koken met zoutzuur het vet, dat men zich o. a. in de dierlijke weefsels opgesloten dacht, voor het extractiemiddel beschikbaar kwam. Dezelfde opvatting vindt men gehuldigd in een onderschrift van de redactie van de *Chemiker Zeitung* naar aanleiding van een artikel over de bepaling van het ruwvet in voedermiddelen.²⁾ Daarin wordt gezegd:

„Ähnliche Unterschiede im Endergebnis erscheinen möglich, wenn bei einem Prüfmaterial, z. B. Futtermittel, die Fett- und Ölteilchen von Begleit-substanzen, wie Eiweiss, Stärke u. dgl. teilweise umhüllt sind. Die direkte

¹⁾ H. L. VISSER, Vetbepaling in kaas en voedermiddelen, *Chem. Weekblad* I, 1903—1904, 424.

²⁾ WEIDMANN en METZGER, Zur Bestimmung des Rohfettes in Futtermitteln, *Chem. Zeitung*, 57, 1933, 363.

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.“

Het gaat er hier dus om het mechanisch ingesloten vet te bepalen. Door de gewone wijze van extraheeren zou eenvoudig een vertraging van de extractie plaats hebben, hetgeen bevestigd werd door het feit dat na 160 uur extraheeren het vet uit brood nagenoeg volledig in oplossing was gegaan.

Wij meenen dat de zaak, wat de sojaproducten betreft, anders staat en niet zoo eenvoudig is als de voor de betrokken voedermiddelen bovenvermelde verklaringen doen schijnen. Voor het afwijkende gedrag van de soja-voedermiddelen van alle andere onderzochte koeksoorten moet een bijzondere reden bestaan. Terloops hebben wij reeds gewezen op het feit, dat de sojaproducten, wat de uitkomsten van de BERNTROP-vetbepaling betreft, analogie vertoonen met de vischmeelen. Nu blijkt het bij vischmeel niet mogelijk om door langdurig voortgezette extractie de totaal aanwezige hoeveelheid vet in oplossing te brengen, zooals door de gegevens van tabel IV wordt aangetoond.

TABEL IV

Duur van de extractie met aether.	Procent vet in oplossing.	Procent vet volgens BERNTROP.
Vischmeel n°. 5465.		
18½ uur	2,38	
53½ „	+ 0,18	
71 „	+ 0,02	
102 „	+ 0,07	
139 „	+ 0,00	
Na 139 „ totaal	2,65	4,3
Vischmeel n°. 5404.		
11½ uur	8,66	
26½ „	+ 0,28	
44 „	+ 0,18	
81 „	+ 0,10	
112 „	+ 0,14	
Na 112 „ totaal	9,36	11,4

Van n°. 5404 is dus slechts 82,1 % van het totaal vet in oplossing gegaan en van n°. 5465 slechts 61,6 %. Hier kan dus ook geen sprake zijn van een mechanische insluiting van het meerdere vet.

Wat nu de overeenkomst met de sojaproducten betreft, zoo is het een bekend feit dat de sojaboonen rijk zijn aan lecithine. Ze zijn de grondstof voor de fabriekmatige bereiding van dit, voor tal van doeleinden belangrijke product. Dit soja-phosphatide is niet of zeer moeilijk oplosbaar in aether. Onderzoekt men namelijk het aetherextract op phosphorzuur, dan verkrijgt men slechts een onbeteekenende of in het geheel geen reactie. Splitst men echter het lecithine, zooals door koken met zoutzuur bij de methode-BERNTROP plaats heeft, dan gaat de vetzurrest van het lecithinemolecuul bij extractie met aether in oplossing ¹⁾. Het is dus niet alleen volkomen begrijpelijk waarom bij toepassing van de methode-BERNTROP bij sojaproducten een belangrijk hooger resultaat in vergelijking met de extractie door aether wordt gevonden, maar tevens waarom dit verschil bij andere voedermiddelen, die minder lecithine bevatten, niet zoo groot kan zijn.

Deze opvatting hebben wij op de volgende wijze meenen te bevestigen. Het monster sojaschroot n°. 1440 is eerst, na buiten toetreden van de zuurstof van de lucht gedroogd te zijn, met water- en alcoholvrijen aether geëxtraheerd. Daarbij is 2,1 % vet gevonden. De van aether bevrijde rest is daarna enkele keeren met kokenden, 96 %-igen alcohol behandeld. Na affiltreeren van de alcoholische oplossing en afdestilleeren van den alcohol werd in het extract door middel van de bepaling van het gehalte aan phosphorzuur 0,93 % lecithine, berekend op de oorspronkelijke stof, gevonden. De geëxtraheerde rest van het meel werd van alcohol bevrijd en nu het vetgehalte volgens BERNTROP bepaald. Dit bedroeg 0,49 %. Nu blijkt uit tabel III, dat de verhooging van het vetcijfer met de methode-BERNTROP in het niet met alcohol geëxtraheerde meel 2 % bedraagt. Er is dus ten gevolge van de alcoholextractie, waardoor de phosphatiden verwijderd worden, 75 % van de BERNTROP-fractie verdwenen, waardoor dus wel bewezen geacht mag worden, dat deze in hoofdzaak van phosphatiden afkomstig moet zijn.

Het uit het phosphorzuur gehalte van het alcoholextract berekende lecithinegehalte is lager dan men uit de BERNTROP-vetfractie zou afleiden. Neemt men nl. de in het lecithine-molecuul aanwezige vetzurrest bij benadering op 69 % aan, dan zou men voor de BERNTROP-fractie in het sojaschroot n°. 1440 $0,69 \times 0,93 + 0,49 = 1,13$ % verwachten, terwijl 2 % gevonden is. Dit verschil is echter hieruit te verklaren, dat het lecithinegehalte afgeleid is uit het phosphorzuur gehalte en vermoedelijk aan de

¹⁾ In overeenstemming hiermede is dat de na koken met zoutzuur verkregen vetfractie steeds een veel hooger zuurgraad heeft dan het vet van de vóórextractie.

phosphatiden analoge verbindingen, doch vrij van P, aanwezig zijn, zooals bijv. de cerebrosiden en de sulfatiden. De laatste verbindingen kan men beschouwen als phosphatiden, waarin de P door S is vervangen. Een dergelijke ervaring hebben we opgedaan bij het vischmeel.

Wij meenen dus ten slotte de vraag te mogen stellen in hoeverre men het door middel van de methode-BERNTROP verkregen meerdere extract — en voornamelijk geldt dit van de hier besproken voedermiddelen voor de sojaproducten — nog tot de oorspronkelijk in het voedermiddel aanwezige vetachtige stoffen mag rekenen. Hetzelfde geldt voor het vischmeel, waarop wij te gelegener tijd hopen terug te komen.

Tevens zou naar aanleiding van het bovenstaande de vraag omtrent uniformiteit in de vetbepaling, meer in het bijzonder in voedermiddelen, die rijk zijn aan phosphatiden, de aandacht verdienen.