

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION WAGENINGEN.

Eenige ervaringen bij het onderzoek van levertraan,

DOOR

Dr. G. B. VAN KAMPEN.

(Ingezonden 31 Januari 1930.)

De kennis van de waarde der vitaminen voor den gezondheidstoestand van het dierlijk organisme is langzamerhand gemeen goed geworden. Een van de praktische gevolgen daarvan is, dat bij de samenstelling van verschillende veevoedermengsels stoffen worden toegevoegd, door welke gunstige werking het succes bij de voeding gewaarborgd zou worden. Dat hier een ruim veld open ligt voor kwakzalverij is begrijpelijk, maar aan den anderen kant zal in vele gevallen de toevoeging van een bepaalde stof, met de bedoeling tegemoet te komen aan een tekort aan een onmisbaar vitamine, inderdaad rationeel zijn ¹⁾.

Als voorbeeld van bedoelde stoffen kan de levertraan genoemd worden, die den laatsten tijd in tal van mengvoeders, en vooral in pluimveevoeders, wordt aangetroffen.

Volgens de 5e uitgave van de Nederlandsche Pharmacopee is levertraan de vette olie, verkregen uit de verse levers van *Gadus Morrhuæ*, Linn. en eenige naverwante soorten van hetzelfde geslacht, en gescheiden van het vaste gedeelte, dat zich uit deze traan in de koude afzet. Dit is dus de kabeljauwlevertraan, welke gunstige werking haar oorzaak vindt in de aanwezigheid van den groei-bevorderenden factor A en het antirachitisch vitamine D. Reeds lang voordat het begrip „vitaminen” bekend was, had praktische ervaring tot de toepassing van levertraan geleid.

Het is te begrijpen, dat in verband met het uitgebreide gebruik en den betrekkelijk hoogen prijs van de levertraan, herhaaldelijk de wenschelijkheid van een beoordeeling, ter beantwoording van de vraag in hoeverre een bepaald product aan de gestelde verwachtingen zal kunnen voldoen, naar voren komt.

Welke middelen staan ons op het oogenblik voor die beoordeeling ten dienste?

Het spreekt vanzelf, dat de meest afdoende wijze is het toetsen van de uitwerking op het levend organisme zelf, dus door proeven met dieren, waarvoor dan meestal ratten dienst doen. Deze methode is echter zeer tijdroovend, en, enkele gevallen misschien uitgezonderd, is zij voor de praktijk

1) Zie ook: G. B. VAN KAMPEN, Voedingswaarde van geëxtraheerde veevoederstoffen, Chem. Weekbl. 26 (1929) n°. 7, 98.

2100652

van den voedermiddelenhandel, zoowel van het standpunt van den consument als van dat van den verkoper, onbruikbaar. Deze verlangen een tastbaar resultaat binnen korten tijd. Hier moet dus het chemisch onderzoek uitsluitend trachten te geven.

Wat de chemische samenstelling betreft, stelt de Pharmacopee eischen voor zuurgraad, verzeepingsgetal en joodadditiegetal. Blijkt een bepaalde traan aan deze eischen te voldoen, dan heeft men, in verband met soortelijk gewicht en refractie, althans eenig houvast in hoeverre zij met normale kabeljauwlevertraan overeenkomt. De in de Pharmacopee genoemde kleurreacties zijn gewoonlijk onduidelijk, omdat de producten, waarvan hier sprake is, en die voor veevoederdoeleinden gebruikt worden, in den regel donkerbruin gekleurd zijn.

Behalve de bepaling van de genoemde grootheden wordt te Wageningen steeds nagegaan of een levertraan de reactie van ROSENHEIM-DRUMMOND op vitamine-A geeft. Deze bestaat hierin, dat aan 1 druppel traan in een reageerbuisje 1 cc $AsCl_3$ wordt toegevoegd. Het optreden van een intens blauwe kleur zou vitamine-A aantonen. Gegevens erover in hoeverre deze reactie parallel loopt met de aanwezigheid van den groei-bevorderenden factor, heb ik tot mijn spijt niet. Een feit is echter, dat verschillende traansoorten deze reactie zeer fraai vertoonen, terwijl sommige daarentegen slechts een zeer zwakke en andere in het geheel geen reactie geven.

Nu is het denkbaar, dat bij de sterk gestegen behoefte aan levertraan voor voederdoeleinden met als gevolg een eventueel tekort aan de echte kabeljauwlevertraan, industrie en handel omzien naar andere bronnen dan de kabeljauwlevers.

Eenigen tijd geleden werd aan het proefstation te Wageningen een levertraan ter onderzoek gezonden, die, in tegenstelling met hetgeen tot dat oogenblik gevonden was, een zeer laag verzeepingsgetal bleek te bezitten, nl. 20.0, terwijl de Pharmacopee voor dat getal een laagste grens stelt van 180. In overeenstemming met dat feit was het gehalte aan onverzeepbare bestanddeelen zeer hoog: 2 bepalingen gaven resp. 88.6 en 89.7 %. Verder was het joodadditiegetal abnormaal hoog; hiervoor werd gevonden 328.5 en 326.0, terwijl voor het additiegetal van levertraan door de Pharmacopee als laagste grens genoemd wordt 155 en als hoogste 180.

Aanvankelijk werd gedacht aan vervalsching met minerale olie, maar deze veronderstelling was in strijd met het hoge J-getal van het onverzeepbare gedeelte, dat gemiddeld niet minder dan 366 bedroeg. Toch bleef geen andere conclusie mogelijk dan die van het aanwezig zijn van koolwaterstoffen en wel van sterk onverzadigde koolwaterstoffen, hetgeen zeker, indien zij niet opzettelijk waren toegevoegd, een opmerkelijk feit was.

Bij het nazien van de betreffende literatuur bleken daarin verschillende mededeelingen voor te komen, waarbij melding wordt gemaakt van de aanwezigheid van koolwaterstoffen in bepaalde vischlevertranen.

Zoo vond MASTBAUM¹⁾, bij een onderzoek van traan, door hem zelf uit de levers van twee vischsoorten, die aan de Marokkaansche kust voorkomen, bereid, voor het verzeepingsgetal 24 en voor het gehalte aan onverzeepbare

1) Über Kohlenwasserstoffe in Fischleberöle. Chem. Ztg. 30, 1915, 889.

bestanddeelen 83 %. Een Londensche analyse, verricht in verband met een levering van deze traan van Lissabon naar Engeland, had vervalsching met minerale olie aangegeven. Deze vergissing is begrijpelijk, omdat tot dat oogenblik (in het jaar 1915), het feit, dat er vischlevertranen voorkomen met 80—90 % onverzeepbare bestanddeelen, onbekend was.

MASTBAUM beschrijft de bedoelde traan als tamelijk dunvloeibaar, bijna waterhelder en met een weinig vischachtige, maar eigenaardig aromatische, eenigszins naar harsolie zweemende reuk.

Ook TSUJIMOTO ¹⁾ beschrijft een tweetal levertranen, afkomstig van haaiensoorten, die in de Japansche zeeën gevangen worden, die een hoog gehalte aan onverzeepbare bestanddeelen bevatten.

Als voorbeeld van de eigenschappen van een dergelijke haailivertraan kunnen de volgende gegevens dienen:

s. g.	0.8644
refractie (20° C.)	1.4930
zuurgraad	0.
verzeepingsgetal	23.0
J-getal (WIJS)	344.6
onverzeepbare bestanddeelen	90.2 %

Door destillatie in vacuo verkreeg hij uit het onverzeepbare gedeelte een sterk onverzadigde koolwaterstof, waarvoor hij bij elementairanalyse de samenstelling $C_{30}H_{50}$ vond. Het J-additiegetal van deze verbinding bedroeg 388. Het berekende J-getal voor $C_{30}H_{50}J_{1.2}$ bedraagt 371.5, zoodat de koolwaterstof $C_{30}H_{50}$, waaraan TSUJIMOTO den naam squaleen geeft, (naar den geslachtsnaam Squalidae van de betrokken haaiensoort), 6 dubbele bindingen moet bevatten. Door hydroëering verkreeg hij een koolwaterstof, $C_{30}H_{62}$, met het uiterlijk van vloeibare paraffine.

Eveneens heeft CHAPMAN ²⁾ in haailivertraan een groote hoeveelheid van een onverzadigde koolwaterstof aangetroffen, waaruit hij de verbinding $C_{30}H_{50}Br_{1.2}$ heeft bereid. Hij stelt voor aan die koolwaterstof den naam spinaceen te geven (van den naam Spinacidae of Squalidae, eene familie van de Selachoidei of haaien).

Volgens een mededeeling in een vergadering van The society of public analysts and other analytical chemists heeft CHAPMAN pas later van het bovengenoemd onderzoek van TSUJIMOTO kennis genomen.

Nadat mij dus gebleken was, dat reeds verschillende onderzoekers opmerkelijk gemaakt hadden op het voorkomen van groote hoeveelheden koolwaterstoffen in bepaalde vischtranen, heb ik het onverzeepbaar gedeelte van de aan het proefstation ingezonden traan nader onderzocht. Na eenigen tijd staan had zich uit dit gedeelte, dat bestond uit een geel gekleurde vloeistof, een weinig van een vaste, kristallijne stof afgezet, die microscopisch het beeld van cholesterine vertoonde.

1) A highly unsaturated hydrocarbon in shark liver oil.

The journal of industrial and engineering chemistry, Vol. VIII, 1916, 889.

2) On the natural occurrence in certain fish-liver oils of high percentages of hydrocarbons. Analyst 42, 1917, 161.

Na verwijderen van de vaste stof werd het vloeibare gedeelte in vacuo bij 3 mM. kwikdruk en onder doorleiden van koolzuur, gedestilleerd. ¹⁾ De vloeistof begon bij ongeveer 260° C. te koken. Gedurende het grootste deel van de destillatie bleef deze temperatuur constant, terwijl een nagenoeg kleurloos destillaat werd verkregen. De overgegene vloeistof had een zwak aromatische reuk; 2 bepalingen voor het J-getal gaven 370.8 en 361.4. Bij microëlementairanalyse werd gevonden voor:

H	12.23 %
	12.15 „
C	87.07 „
	87.14 „

en bij moleculair-gewichtsbepaling volgens RAST: 401.9.

Berekend voor $C_{30}H_{50}$:	H	12.2 %
	C	87.8 „
	mol. gew.	410.

De gevonden samenstelling van de door vacuumdestillatie uit het onverzeepbare gedeelte verkregen verbinding is dus wel in overeenstemming met de formule $C_{30}H_{50}$; ook komt één van de gevonden cijfers voor het J-additiefgetal, nl. 370.8, nauwkeurig overeen met de berekende waarde voor $C_{30}H_{50}J_{12}$ (371.5).

Blijkens de gevonden gegevens is de onderzochte levertraan dus een product, dat in samenstelling groote overeenkomst vertoont met de door TSUJIMOTO onderzochte haaienlevertraan.

Door TSUJIMOTO en TOYAMA ²⁾ is verder gevonden, dat de levertranen, waarin het squaleen voorkomt, behalve deze koolwaterstof ook nog andere onverzeepbare lichamen, nl. alcoholen, bevatten en dat verschillende andere haai- en roglevertranen wel groote hoeveelheden onverzeepbare alcoholen, maar in het geheel geen squaleen bevatten. Twee der door hen geïsoleerde alcoholen noemen zij selachylalcohol, $C_{20}H_{40}O_3$ en batylalcohol $C_{20}H_{42}O_3$. De laatste kan uit de eerste door hydrereen worden verkregen.

Het voorkomen van groote hoeveelheden vloeibare koolwaterstoffen in vischlevertranen is van een analytisch en biologisch standpunt in hooge mate belangwekkend.

Uit physiologisch oogpunt rijst de vraag, wat de functie is van een dergelijke koolwaterstof in de lever van verschillende diepzeebewoners. Dat deze zeer belangrijk geacht moet worden blijkt wel hieruit, dat het gewicht van de lever van sommige haaiensoorten ongeveer 25 % van het lichaamsgewicht kan bedragen, terwijl de lever zeer rijk aan traan is. De koolwaterstof schijnt hier de plaats van de onverzadigde vetzuren in te nemen.

1) Door Prof. OLIVIER werd ik in de gelegenheid gesteld deze bewerking in diens laboratorium uit te voeren, waarvoor ik ook te dezer plaatse mijn dank betuig.

2) Über die unverseifbaren Bestandteile (höheren Alkohole) der Haifisch- und Rochenleberöle. Chemische Umschau, 29, 1922, 27, 35, 43.

Door een onderzoek van ANDRÉ en CANAL ¹⁾ over de samenstelling van de levertraan van een jonge haai is aannemelijk gemaakt, dat er verwantschap bestaat tusschen het squaleen en cholesterine. In hunne conclusies zeggen zij, dat de sterk onverzadigde vetzuren de eerste trap schijnen te zijn van de omzetting door de levende stof van vetzuren in cholesterinen. Verder trekt de aandacht de gelijktijdige aanwezigheid in de levertraan van de jonge haai van een hoog gehalte aan cholesterinen en van een aanzienlijke hoeveelheid van een alcohol van die groep, die meerdere dubbele bindingen bevat. Ofschoon nog zeer slecht bekend, kunnen nl. de sterk onverzadigde cholesterinen beschouwd worden als chemische verbindingen, die zeer nauw verwant, zoo niet identiek zijn met de vet-oplosbare vitaminen (vitamine-A of groei-bevorderend vitamine en vitamine-D of antirachitisch vitamine), die soms met de namen vitasterinen of biosterinen worden aangeduid.

Het onderzoek van de levertraan van de jonge haai levert een krachtig argument voor de hypothese van het verband tusschen cholesterine en squaleen. Door ANDRÉ en CANAL werd in die traan gevonden:

sterk onverzadigde vetzuren	25	%
cholesterinen	22.5	%
squaleen	18	%

Een vergelijking van de samenstelling van de levertraan van de jonge haai met die van het volwassen dier leert verder, dat de omzetting: vetzuren cholesterinen squaleen vordert met den groei van het dier:

	Jonge haai	Volwassen haai.
vetzuren	52 %	47 %
cholesterinen	22.5 %	2 %
squaleen	18 %	48 %

Volgens A. en C. staat de samenstelling van het squaleen nog niet vast. Voor het J-getal vonden zij waarden van 410—420. Wanneer men zou kunnen vaststellen, dat de samenstelling zou beantwoorden aan de formule $C_{27}H_{44}$ (het theoretische J-getal voor $C_{27}H_{44}J_{12} = 414$), dan zou tusschen deze verbinding en het cholesterine ($C_{27}H_{45}OH$), een nauwe chemische verwantschap bestaan.

De opvatting van TSUJIMOTO, dat de koolwaterstof $C_{30}H_{50}$ een alifatische verbinding is, kan na het diepgaand onderzoek van HEILBRON, KAMM en OWENS ²⁾; HEILBRON, OWENS en SIMPSON ³⁾ en HEILBRON en THOMPSON ⁴⁾, over de constitutie van het squaleen, wel terzijde gesteld worden.

Deze onderzoekers komen, naar aanleiding van hunne uitvoerige studie, waarbij het squaleen zowel aan droge destillatie als aan ozonisatie — en

1) Etude chimique de l'huile de foie d'un jeune squalé „pèlerin" mâle (*Cetorhinus maximus*, GÜNNER). Relations biologiques entre les cholestérols et le squalène. Bull. de la soc. chim. de France, 1929, 4e série, t. XLV—XLVI, n°. 6.

2) The unsaponifiable matter from the oils of Elasmobranch fish. J. Chem. Soc. 1926, p. 1630.

3) L.c. 1929, p. 873.

4) L.c. 1929, p. 883.

deze laatste bewerking zoowel direct als na gedeeltelijk hydrogeniseeren — werd onderworpen, tot de conclusie, dat het beschouwd moet worden als een terpeenachtig lichaam en wel als een dihydroterpeen, waarbij, op grond van de gevonden ontledingsproducten, een 3-tal isomere vormen moeten worden aangenomen.

Een vraag van overwegend belang is natuurlijk in hoeverre een dergelijke, grootendeels uit koolwaterstoffen bestaande traan, bij de voeding de kabeljauwlevertraan kan vervangen. Voor zoover mij bekend is, bestaan hierover nog geen gegevens. Wel is door CHANNON (University College, Londen) bij voederproeven met squalen aan ratten aangetoond, dat de hoeveelheid cholesterine in de lever daardoor sterk vermeerderd wordt.

Ten slotte mag ik niet nalaten erop te wijzen, dat de aanwezigheid in vischlevertraan van een belangrijke hoeveelheid koolwaterstoffen, gemengd met alcoholen, die een hoog draaiingsvermogen bezitten, een nieuw en waardevol experimenteel argument levert voor de hypothese van het ontstaan van petroleum uit zeedieren. Men weet, dat de petroleum verbindingen bevat, die optisch actief zijn en de aanhangers van de theorie van ENGLER-HOFFER meenen, dat het cholesterine hiervan de oorzaak is.
