



Fedtekstraktion

Fedt- og fedtsyreindhold i enkeltfordermidler målt ved 4 forskellige fedtekstraktionsmetoder

Jens Oluf Andersen

Afdelingen for Dyrefysiologi og Biokemi

Nærværende undersøgelse er udført for at vise, hvilke forskelle i henholdsvis fedt- og fedtsyreindhold der kan forekomme for forskellige enkeltfordermidler ekstraheret efter 4 forskellige ekstraktionsmetoder.

Resultaterne viser:

1) at man ved saltsyrehydrolyse af prøven før ekstraktion både får mere fedt og flere fedtsyrer ekstraheret end ved ekstraktion uden forudgående hydrolyse.

2) at man ved anvendelse af petroleumsæter som ekstraktionsmiddel i stedet for diætylæter får mindre mængder fedt og fedtsyrer ekstraheret.

3) at ekstraktionsmetoden, hvor kloroform anvendes som ekstraktionsmiddel, i de fleste tilfælde ekstraherer lidt mere fedt end Stolt's metode, hvorimod fedtsyremængden er en anelse lavere end ved Stoldt's metode.

Baggrund

Et fodermiddels fedtindhold er defineret som den mængde stof, der kan ekstraheres med et egnet organisk opløsningsmiddel efter en nærmere angivet metode.

Der findes flere egnede organiske opløsningsmidler og mange ekstraktionsmetoder. Den mængde fedt, man får ekstraheret, er afhængig af prøvens forbehandling, metode og anvendt opløsningsmiddel. For at kunne vurdere angivne resultater, er det derfor nødvendigt at kende ekstraktionsbetingelserne.

Ved bestemmelse af et fodermiddels fedtsyreindhold foretages normalt først en fedtekstraktion af prøven. Derefter udføres kemisk analyse for fedtsyrer i ekstraktet. Fedtsyrebestemmelsen er derfor lige så afhængig af den anvendte fedtekstraktionsmetode, som bestemmelsen af fedtindholdet er.

Metoder

De fire ekstraktionsmetoder, der er sammenlignet:

Tabel 1. Fedt i pct. af tørstof

Nr. Fodermiddel	Fedt-ekstraktionsmetoder							
	A (Æter)		B (HCl-æter)		C (HCl-petr. æter)		D (K.-HCl-K.)	
	gns.	sd	gns.	sd	gns.	sd	gns.	sd
1 Byg			3,24 ^a	0,06	2,73 ^b	0,10	3,61 ^c	0,06
2 Fiskemel			11,20 ^a	0,09	9,99 ^b	0,16	12,85 ^c	0,22
3 Havre, afskallet			1,69 ^a	0,05	1,48 ^b	0,01	1,73 ^a	0,05
4 Hestebønne			2,38 ^a	0,12	1,95 ^b	0,04	2,43 ^a	0,04
5 Hvede			2,70 ^a	0,12	2,43 ^a	0,06	2,68 ^a	0,02
6 Hvedekliid			5,67 ^a	0,07	4,33 ^b	0,03	6,55 ^c	0,08
7 Hvedemel			1,86 ^{ab}	0,06	1,61 ^a	0,06	2,07 ^b	0,04
8 Kokoskage			12,03 ^a	0,12	11,39 ^b	0,04	11,82 ^a	0,02
9 Kokoskage			10,86 ^a	0,13	10,37 ^b	0,03	10,86 ^{ab}	0,00
10 Majsstivelse			4,49 ^a	0,07	4,01 ^b	0,04	5,03 ^c	0,05
11 Palmekage			11,00 ^a	0,03	9,82 ^b	0,08	11,14 ^a	0,02
12 Rapskage			9,89 ^a	0,12	8,95 ^b	0,10	10,62 ^c	0,08
13 Rug			2,05 ^a	0,08	1,74 ^b	0,02	2,43 ^c	0,01
14 Soyaskrå			2,54 ^a	0,02	1,94 ^b	0,07	2,68 ^a	0,13
15 Sukkerroepiller			2,65 ^a	0,06	1,03 ^b	0,14	2,78 ^a	0,04
16 Bomuldsfrøkage	5,43 ^a	0,09	6,47 ^b	0,15	5,49 ^a	0,10	6,45 ^b	0,02
17 Byg	2,35 ^a	0,04	3,35 ^b	0,03	3,09 ^c	0,05	3,47 ^b	0,08
18 Fiskemel	9,23 ^a	0,04	10,72 ^b	0,03	10,13 ^c	0,18	11,41 ^d	0,06
19 Havre	4,24 ^a	0,01	5,05 ^b	0,03	4,55 ^c	0,05	5,44 ^d	0,05
20 Hestebønne	1,39 ^a	0,02	2,22 ^{bc}	0,05	2,07 ^b	0,01	2,41 ^c	0,11
21 Hvede	1,88 ^a	0,04	2,63 ^b	0,01	2,26 ^c	0,02	2,78 ^d	0,02
22 Hvedekliid	5,92 ^a	0,16	6,13 ^a	0,03	5,18 ^b	0,04	6,35 ^a	0,04
23 Hørfrø-expeller	8,99 ^a	0,01	9,67 ^b	0,06	8,75 ^a	0,05	9,82 ^b	0,09
24 Høefrøkage	8,66 ^a	0,06	9,48 ^b	0,06	8,53 ^a	0,13	9,66 ^b	0,06
25 Kokoskage	10,67 ^a	0,01	10,98 ^b	0,10	10,47 ^a	0,03	11,27 ^c	0,01
26 Kød-benmel	13,09 ^a	0,14	13,86 ^b	0,25	13,23 ^{ab}	0,10	14,57 ^c	0,09
27 Madpulp	31,17 ^a	0,17	31,89 ^b	0,10	32,09 ^b	0,24	32,55 ^b	0,14
28 Majs	4,49 ^a	0,01	5,07 ^b	0,05	4,91 ^b	0,03	5,01 ^b	0,05
29 Palme-ekspeller	9,72 ^a	0,05	10,38 ^b	0,15	8,94 ^c	0,03	10,19 ^b	0,07
30 Palmekage	11,10 ^a	0,04	11,74 ^b	0,05	10,75 ^c	0,02	11,53 ^d	0,05
31 Rapsfrø	41,28 ^a	0,21	42,90 ^b	0,22	41,74 ^a	0,14	42,98 ^b	0,10
32 Rapskage	4,98 ^a	0,03	6,66 ^b	0,02	5,89 ^c	0,11	7,37 ^d	0,03
33 Rapsskrå	3,31 ^a	0,07	5,09 ^b	0,07	3,88 ^c	0,13	5,15 ^b	0,07
34 Rug	1,61 ^a	0,03	2,19 ^b	0,01	1,83 ^c	0,02	2,34 ^d	0,02
35 Soya-ekspeller	6,66 ^a	0,01	7,79 ^b	0,11	7,00 ^c	0,05	7,65 ^b	0,06
36 Soyaskrå	1,99 ^a	0,02	3,10 ^b	0,06	2,55 ^c	0,03	3,21 ^b	0,11
37 Sød-lupin	6,47 ^a	0,05	7,48 ^{bc}	0,03	7,23 ^b	0,09	7,76 ^c	0,16
38 Tørgær	3,15 ^a	0,08	5,25 ^b	0,03	4,31 ^c	0,02	5,46 ^b	0,06
39 Ærter	1,33 ^a	0,02	2,59 ^b	0,01	2,32 ^c	0,02	2,88 ^d	0,06

Analyseresultater for samme fodermiddel med forskellig indeksbogstaver er signifikant forskellige ($p < 0,001$).

Metode A (Æter) var helt op til slutningen af 60-erne den anvendte fedt ekstraktionsmetode ved Statens Husdyrbrugsforsøg (SH). Den blev i mange tilfælde anvendt til i begyndelsen af 80-erne. Prøven ekstraheres i et Soxhlet ekstraktionsapparat ved hjælp af diætylæter uden anden forbehandling end tørring.

Metode B (HCl-æter, ofte benævnt Stoldt's metode) afløste langsomt metode A som fedt-

ekstraktionsmetoden, der anvendtes ved forsøg ved SH. Ekstraktionen udføres som ved metode A, men prøven koges med saltsyre før ekstraktion. Herved bliver en del fedtsyrer, der er bundet i forskellige kemiske forbindelser, som ikke er opløselige i diætylæter, ekstraherbare. Endvidere sker der en oplukning af planteceller, hvorved fedtkomponenter inde i cellen bliver lettere at ekstrahere.

Tabel 2. Fedtsyrer i pct. af tørstof og i pct. af ekstraheret fedt

Nr.	Fedt-ekstraktionsmetoder												
	A		B		C		D		A	B	C	D	
	gns.	sd	Målte fedtsyrer i % af tørstof		Målte fedtsyrer i % af ekstraheret fedt		gns.	sd	gns.	sd	gns.	sd	
1			2,74 ^a	0,02	2,47 ^a	0,09	2,72 ^a	0,11			84,6	90,5	75,3
2			8,31 ^a	0,04	7,93 ^a	0,15	8,78 ^b	0,03			74,2	79,4	68,3
3			1,40 ^a	0,01	1,33 ^a	0,03	1,33 ^a	0,03			82,8	89,9	76,9
4			1,93 ^a	0,09	1,64 ^a	0,03	1,81 ^a	0,03			81,1	84,1	74,5
5			2,15 ^a	0,06	2,14 ^a	0,04	2,17 ^a	0,02			79,6	88,1	81,0
6			4,03 ^a	0,08	3,65 ^b	0,07	4,02 ^a	0,01			71,1	84,3	61,4
7			1,61 ^a	0,03	1,45 ^b	0,01	1,57 ^a	0,01			86,6	90,1	75,8
8			10,68 ^a	0,11	10,10 ^b	0,03	10,23 ^b	0,01			88,8	88,7	86,5
9			9,23 ^a	0,04	9,10 ^b	0,03	9,36 ^a	0,02			85,8	87,8	86,2
10			3,77 ^a	0,05	3,58 ^a	0,05	3,81 ^a	0,07			84,0	89,3	75,7
11			9,66 ^a	0,06	9,02 ^b	0,05	9,81 ^a	0,01			87,8	91,9	88,1
12			8,59 ^a	0,05	8,34 ^a	0,07	8,53 ^a	0,10			86,9	93,2	80,3
13			1,44 ^a	0,01	1,40 ^a	0,02	1,46 ^a	0,04			70,2	80,5	60,1
14			1,74 ^a	0,01	1,55 ^a	0,03	1,70 ^a	0,06			68,5	79,9	63,4
15			1,02 ^a	0,00	0,51 ^b	0,05	0,96 ^a	0,02			38,5	49,5	34,5
16	4,81 ^a	0,07	5,58 ^b	0,07	5,09 ^c	0,03	5,45 ^b	0,02	88,6		86,2	92,7	84,5
17	1,90 ^a	0,02	2,82 ^b	0,02	2,76 ^b	0,04	2,72 ^b	0,03	80,9		84,2	89,3	78,4
18	7,21 ^a	0,01	8,66 ^b	0,03	8,50 ^b	0,15	8,68 ^b	0,09	78,1		80,8	83,9	76,1
19	2,90 ^a	0,03	4,23 ^b	0,00	4,08 ^c	0,03	4,36 ^d	0,04	68,4		83,8	89,7	80,1
20	1,09 ^a	0,01	1,81 ^b	0,08	1,75 ^b	0,02	1,81 ^b	0,04	78,4		81,5	84,5	75,1
21	1,42 ^a	0,00	2,11 ^b	0,01	1,99 ^c	0,02	2,02 ^c	0,01	75,5		80,2	88,1	72,7
22	4,43 ^a	0,08	4,73 ^b	0,00	4,58 ^{ab}	0,02	4,66 ^b	0,01	74,8		77,2	88,4	73,4
23	7,96 ^a	0,10	8,64 ^b	0,01	8,20 ^a	0,01	8,45 ^b	0,06	88,5		89,3	93,7	86,0
24	7,73 ^a	0,03	8,41 ^b	0,08	7,89 ^{ac}	0,16	8,24 ^{bc}	0,03	89,3		88,7	92,5	85,3
25	9,04 ^a	0,02	9,33 ^b	0,03	9,08 ^a	0,03	9,46 ^b	0,04	84,7		85,0	86,7	83,9
26	10,03 ^a	0,37	11,09 ^b	0,22	10,93 ^{ab}	0,16	11,18 ^b	0,05	76,6		80,0	82,6	76,7
27	27,11 ^a	0,10	27,34 ^a	0,14	27,79 ^a	0,26	27,70 ^a	0,13	87,0		85,7	86,6	85,1
28	4,04 ^a	0,01	4,53 ^b	0,06	4,54 ^b	0,01	4,60 ^b	0,02	90,0		89,3	92,5	91,8
29	8,56 ^a	0,01	9,13 ^b	0,12	8,22 ^c	0,02	9,13 ^b	0,07	88,1		88,0	91,9	89,6
30	9,90 ^a	0,03	10,27 ^b	0,02	9,55 ^c	0,01	10,27 ^b	0,02	89,2		87,5	88,8	89,1
31	37,78 ^a	0,20	39,14 ^{bc}	0,23	38,51 ^{ab}	0,17	39,66 ^c	0,13	91,5		91,2	92,3	92,3
32	3,94 ^a	0,01	5,56 ^b	0,01	5,23 ^c	0,09	5,36 ^c	0,03	79,1		83,5	88,8	72,7
33	2,46 ^a	0,05	4,04 ^b	0,02	3,48 ^c	0,06	3,79 ^d	0,05	74,3		79,4	89,7	73,6
34	0,99 ^a	0,01	1,53 ^b	0,01	1,47 ^c	0,01	1,49 ^{bc}	0,01	61,5		69,9	80,3	63,7
35	5,69 ^a	0,03	6,50 ^b	0,09	6,30 ^b	0,09	6,28 ^b	0,11	85,4		83,3	90,0	82,1
36	1,31 ^a	0,01	2,28 ^b	0,00	2,14 ^c	0,01	2,25 ^b	0,02	65,8		73,5	83,9	70,1
37	5,54 ^a	0,12	6,54 ^b	0,01	6,42 ^b	0,03	6,59 ^b	0,13	85,6		87,4	88,8	84,9
38	1,42 ^a	0,00	2,85 ^b	0,01	2,72 ^c	0,03	2,62 ^d	0,03	45,1		54,3	63,1	48,0
39	1,00 ^a	0,00	2,10 ^b	0,03	2,04 ^b	0,00	1,90 ^c	0,03	75,2		81,1	87,9	66,0

Analyseresultater for samme fodermiddel med forskellig indeksbogstaver er signifikant forskellige (p<0,001).

Tabel 3. Gennemsnit af forholdstal for henholdsvis 24 og 39 enkeltfodermidler

Fedtektstraktionsmetode		Forholdstal			
		A	B	C	D
Ekstraheret fedt	(n=24)	81,8	100	89,9	103,5
i % af tørstof	(n=39)		100	87,5	104,8
Sum af målte fedtsyrer	(n=24)	79,0	100	95,7	98,3
i % af tørstof	(n=39)		100	93,8	98,5
Målte fedtsyrer	(n=24)	96,1	100	106,7	95,2
i % af ekstraheret fedt	(n=39)		100	107,7	94,2

Metode C (HCl-petroleumsæter) er metoden, EF har påbudt, ved handel med fodermidler. Forbehandling og ekstraktion foretages som ved metode B, men som opløsningsmiddel anvendes petroleumsæter i stedet for diætylæter.

Metode D (Kloroform-HCl-kloroform) er anvendt ved næsten alle fedtsyrebestemmelser i foder ved SH fra begyndelsen af 60-erne, hvor udførelse af disse analyser indledtes, til midt i 80-erne, hvor Centrallaboratoriet overtog fedtsyreanalysen. Prøven rystes med kloroform og filtreres. Den ekstraherede prøve saltsyrehydrolyseres og ekstraheres atter med kloroform. De to ekstrakter blandes.

Oprindeligt var kun planlagt at sammenligne metoderne B, C og D. Da det imidlertid ofte er diskuteret, om det merudbytte af fedt, man får ved at behandle prøverne med saltsyre, er lige så godt fedt, som det man ekstraherer uden saltsyrehydrolyse, blev undersøgelsen udvidet med metode A.

Resultater

I tabel 1 og 2 er anført resultater for fedt- og fedtsyreindhold bestemt ved forskellige ekstraktionsmetoder. Resultaterne er gennemsnit af tre bestemmelser. Endvidere er angivet, hvor meget summen af de målte fedtsyrer har været i % af ekstraheret fedt.

Ved at betragte tabel 1 og 2 ses de forrest i meddelelsen nævnte forhold umiddelbart at være gældende. Der har imidlertid været ret store variationer de enkelte fodermidler imellem. Forskelle mellem de fire metoder er beregnet ved at sætte mængden af ekstraheret fedt og summen af målte fedtsyrer for metode B lig 100 og sætte tilsvarende resultater for de tre andre metoder i forhold hertil. Den gennemsnitlige forskel for henholdsvis de 24 fodermidler, hvor alle fire ekstraktionsmetoder er anvendt,

og de 39 fodermidler, hvor kun de tre metoder sammenlignes, er vist i tabel 3.

I gennemsnit for de analyserede fodermidler er fundet, at udelades saltsyrehydrolyse af prøven før ekstraktion, fandtes fedtindholdet at være 18% lavere (de største udsving var på henholdsvis 2 og 49 procentenheder), medens fedtsyreindholdet blev 21% lavere (1 og 52%). Merudbyttet af fedt på grund af saltsyrehydrolyse har således i denne undersøgelse haft et større fedtsyreindhold, end det fedt, der blev ekstraheret uden forudgående hydrolyse med saltsyre. Anvendtes petroleumsæter som ekstraktionsmiddel i stedet for diætylæter blev fedtindholdet bestemt 12% lavere (-1 og 24%), og fedtsyreindholdet blev fundet 6% lavere (-2 og 15%). Ekstraktionsmetode D gav i forhold til metode B 5% mere fedt (-2 og 16%) men 1,5% mindre fedtsyrer (-6 og 6%).

Diskussion

Der er store forskelle mellem enkeltfodermidlerne. Talmaterialet kan derfor ikke anvendes til direkte omregning af analyseresultater for tilfældige foderblandinger fra én metode til en anden.

Det er imidlertid vigtigt at være opmærksom på, at forskellene eksisterer. Ligeledes at vide hvilken størrelsesorden, der er tale om. Ekstraktionsmetode B anvendes ved praktisk taget alle forsøg, der udføres ved SH, både til bestemmelse af fedtindholdet og som ekstraktionsmetode for fedtsyrebestemmelse. Det er imidlertid metode C, der anvendes ved handel med fodermidler.

Danske Slagterier og Danske Andels Kødfoeder- og Albuminfabrikker har ydet økonomisk støtte til projektets gennemførelse.