Projectnr.: 7041701
Ontwikkeling van een databank t.b.v. het microscopisch identiteitsonderzoek van agrarische produkten.
Projectleider: drs. W.J.H.J. de Jong

Rapport 96.26 juli 1996

MICROSCOPISCHE IDENTIFICATIE VAN DIERMEEL, VLEESBEENDERMEEL, BEENDERMEEL, VISMEEL EN PLUIMVEESLACHTAFVALMEEL

drs. W.J.H.J. de Jong

Afdeling: Microbiologie & Biotechniek

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 0317-475400
Telefax 0317-417717

VERZENDLIJST

INTERN:
directeur
programmaleiders (2X)
in- en externe communicatie (3x)
bibliotheek (3x)
dr. J.P. Hoogland
dr. J. de Jong
drs. W.J.H.J. de Jong
V.G.Z. Pinckaers
L.G.T.M. Pricken
J.J.M. Vliege

EXTERN:
Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Ministerie LNV, Directie Wetenschap en Kennisoverdracht
Ministerie LNV, Directie Landbouw (ir. G. de Peuter)
Ministerie WVS, Veterinaire hoofdinspectie (dr. W. Edel)
Produktschap voor Veevoeder (ing. J. den Hartog)
Algemene Inspectie Dienst (dhr. J.H. Netjes)
Belastingdienst/Douane Laboratorium (drs. G.J. Sluis, drs. T. Knol)
Europese Commissie, Directoraat Generaal voor de Landbouw, Directoraat VI/BII.1 Kwaliteit en Gezondheid (dr. J. Pérez-Lanzac)
Nederlands Normalisatie-instituut, Secretariaat ISO/TC 34,SC 10 "Animal feedingstuffs" (ir. R.J. Zwart)
Kwaliteitsdienst Diervoedersector (KDD), Produktschap voor Veevoeder (ir. D.F. Wolters)

ABSTRACT

Microscopische identificatie van diermeel, vleesbeendermeel, beendermeel, vismeel en pluimveeslachtafvalmeel

Microscopical identification of meat-and-bone meal, fish meal and poultry by-product meal (in Dutch)

Report 96.26 July 1996

W.J.H.J. de Jong

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)
P.O. Box 230, NL-6700 AE Wageningen, The Netherlands

1 annex, 22 pages, 11 references

Microscopical examination is a useful technique for the identification of ingredients in animal feeds. In all EC Member States the feeding of meat-and-bone meal products of ruminant origin to ruminants is prohibited in order to reduce the risk of bovine spongiform encephalopathy, BSE (Decision 94/381/EC). In this report a survey is given of the microscopical identification method of meat-and-bone meal products. In view of the fact that confusion of meat-and-bone meal with fish meal and poultry by-product meal is possible, particularly in mixed feed, a description of microscopical features of both animal products is also given.

Keywords: meat-and-bone meal, fish meal, poultry by-product meal, microscopical identification.

INHOUD

SAMENVATTING

Op grond van wettelijke regelingen (Beschikking 94/381/EG en Verordening Vvr Regeling verwerking dierlijke produkten in diervoeders 1994), die voortvloeien uit bepaalde beschermende maatregelen ten aanzien van boviene spongiforme encefalopathie (BSE), is het vervoederen van alle van zoogdieren afkomstig eiwit aan herkauwers verboden. Van zoogdieren afkomstig eiwit komt voor in diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel. De verwerking van deze diervoedergrondstoffen in rundveevoeders is derhalve verboden.
In dit rapport wordt de microscopische identificatie methode van diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel beschreven, die toegepast kan worden bij de controle van rundveevoeders in het kader van bovengenoemde Beschikking c.q. Verordening.

Door middel van microscopisch onderzoek kunnen diervoedergrondstoffen geïdentificeerd worden. Deze identificatie wordt zowel stereomicroscopisch (vergroting 8* tot 50*) als microscopisch (vergroting 100*, 160* en 400*) uitgevoerd. Bij het microscopisch onderzoek wordt gebruik gemaakt van verschillende insluitmiddelen en reagentia. Aan de hand van specifieke morfologische, anatomische en histologische kenmerken van diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel vindt de identificatie plaats.
Vanwege de morfologische overeenkomsten van diermeel met vismeel en pluimveeslachtafvalmeel - met name wat betreft het spierweefsel - zijn deze twee diervoedergrondstoffen eveneens bij het onderzoek betrokken.

Uit de resultaten van het onderzoek blijkt dat diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel microscopisch te identificeren zijn. Een onderscheid tussen diermeel afkomstig van herkauwers en diermeel afkomstig van niet-herkauwers is microscopisch echter niet vast te stellen.
Aan de hand van de morfologische en histologische kenmerken van de fragmenten van beenderen en van graten is microscopisch wel een onderscheid te maken tussen diermeel en vismeel. Verder bevat diermeel aan karakteristieke bestanddelen fragmenten van haren, hoeven, hoorn en bloed. Vismeel bevat naast graten visschubben en soms gehoorsteentjes, viseieren en verontreinigingen zoals schelpgruis, zeewier, garnaal- en krabfragmenten. De microscopische identificatie van pluimveeslachtafvalmeel berust op de aanwezigheid van niet gedenatureerde veerbestanddelen en gemalen eierschalen.

Bij het onderzoek is vastgesteld dat door middel van microscopisch onderzoek diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel microscopisch te identificeren zijn. Op grond hiervan is de controle van rundveevoeders op de aan- of afwezigheid van deze dierlijke produkten mogelijk.

Van de belangrijkste c.q. meest karakteristieke kenmerken waarmee dierlijke produkten geidentificeerd kunnen worden, zijn met een CCD-camera microscopische en stereomicroscopische opnamen gemaakt. Deze zijn opgenomen in het databankprogramma "Treasury" en uitgeprint met een kleurenprinter (NEC-Colormate PS/80, 300 dpi).

1 INLEIDING

In het kader van de Beschikking 94/381/EG betreffende beschermende maatregelen t.a.v. boviene spongiforme encefalopathie (BSE) is de vervoedering van alle van zoogdieren afkomstig eiwit aan herkauwers verboden [1]. Met de Beschikking 95/60/EG zijn bepaalde dierlijke produkten en bijprodukten vrijgesteld van deze verbodsbepaling [2]. De verbodsbepaling geldt niet voor melk, gelatine, aminozuren uit hoeven en huiden, dicalciumfosfaat uit ontvette beenderen, gedroogd plasma en andere bloedprodukten [1,2]. Deze Beschikkingen zijn opgenomen in de nationale wetgeving als 'Verordening Vvr Regeling verwerking dierlijke produkten in diervoeders 1994' [3].
In het kader van Beschikking 94/381/EG is het wel toegestaan eiwit van niet-herkauwers te vervoederen aan herkauwers als een systeem wordt toegepast waarbij eiwit van niet-herkauwers kan worden onderscheiden van eiwit van herkauwers [1]. In de Bijlage bij de 'Verordening Vvr Regeling verwerking dierlijke produkten in diervoeders 1994' zijn procedures beschreven op grond waarvan het onderscheid tussen eiwitten van niet-herkauwers en herkauwers gemaakt kan worden [3]. Dit betekent dat in voeders voor herkauwers toch dierlijke produkten afkomstig van zoogdieren - zoals bijvoorbeeld van varkens - verwerkt kunnen zijn. In de Nederlandse praktijksituatie blijkt echter dat dierlijke eiwitten in rundveevoeders niet worden toegepast ondermeer omdat ruwvoeders in Nederland voldoende bestendig eiwit bevatten en ook omdat het gebruik van dierlijke eiwitten in rundveevoeders aanleiding geven tot problemen met de smakelijkheid van het voer [4].

Tot dierlijke eiwitten afkomstig van zoogdieren kunnen in dit verband worden gerekend: diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel. Bij de produktie van dierlijke eiwitten vindt een aantal bewerkingen plaats zoals koken, drogen, malen, ontvetten en steriliseren, waardoor de microscopische struktuur van vooral de zachte weefsels van spieren en organen sterk wordt veranderd of vernietigd.
Voor de identificatie van dierlijke eiwitten is het bereiden van een sediment in tetrachloorkoolstof of chloroform voor het isoleren van bestanddelen zoals beenfragmenten en mineralen essentieel. Verder dient het onderzoek zowel microscopisch (met en zonder gepolariseerd licht) als stereomicroscopisch plaats te vinden en is het gebruik van referentiemonsters onontbeerlijk [5].

In dit rapport worden de belangrijkste macroscopische (stereomicroscopische) en microscopische kenmerken van diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel beschreven waarmee deze veevoedergrondstoffen kunnen worden geïdentificeerd. Deze beschrijvingen zijn gebaseerd op het microscopisch onderzoek van referentiemonsters. Verder is voor de beschrijving van de microscopische identificatie van dierlijke produkten gebruik gemaakt van gegevens uit een aantal publikaties op dit gebied [5,6,7].

Diermeel en vleesbeendermeel vertonen morfologische en histologische overeenkomsten met vismeel en pluimveeslachtafvalmeel - vooral wat betreft de spiervezels. Daarom zijn vismeel en pluimveeslachtafvalmeel eveneens bij dit onderzoek betrokken.

2 MATERIAAL EN METHODEN

2.1 Monstermateriaal

Bij het ontwikkelen van microscopische methoden voor de identificatie van diermeel, vleesbeendermeel, beendermeel, vismeel en pluimveeslachtafvalmeel is gebruik gemaakt van de verzameling referentiemonsters van RIKILT-DLO.

2.2 Methoden van onderzoek

2.2.1 Monstervoorbereiding

Het referentiemonster wordt uitgespreid op een gladde droge ondergrond in een dunne laag. Hiervan wordt een analysemonster van ongeveer 10 g genomen volgens de uitkruismethode [8]. Als het monster geheel of gedeeltelijk uit pellets bestaat moeten deze pellets eerst verkleind worden. Dit wordt uitgevoerd door in een mortier de pellets voorzichtig fijn te wrijven tot kleinere deeltjes. Deze methode van verkleinen van de pellets geeft minder fijne deeltjes of bloem dan het malen van de pellets met een molen. Zeer kleine deeltjes zijn namelijk moeilijker te identificeren met een stereomicroscoop.
Het analysemonster wordt vervolgens gezeefd in drie fracties: een grove fractie (> 355 μm), een middelfijne fractie (< 355 μm, > 250 μm) en een fijne of bloemfractie (< 250 μm) [9].
Ten behoeve van het onderzoek naar fragmenten van beenderen en graten wordt een sediment van het monster bereid. Door suspenderen van een deel van het monster in een vloeistof met een hoge relatieve dichtheid i.c. tetrachloorkoolstof (CCl_4; D^{25} 1,5845) vindt een scheiding in twee fracties plaats. Bijvoorbeeld bij diermeel een organische fractie, die blijft drijven (bestaande uit spierweefsel, bindweefsel, bloed, hoef- en hoornpartikels) en een minerale fractie, die bezinkt (bestaande uit beenderfragmenten). Na decanteren en drogen kunnen beide fracties microscopisch onderzocht worden [10].
Bij de bereiding van het sediment is de hoeveelheid monstermateriaal, die in bewerking wordt genomen, afhankelijk van de aard van het produkt. Voor mengvoeders neemt men bijvoorbeeld 10 g in bewerking, bij dierlijke produkten 5 g of minder. Na het drogen van het sediment wordt het residu gewogen en het percentage berekend [9].

2.2.2 Microscopisch onderzoek

A. Stereomicroscopisch onderzoek

De grove en middelfijne fractie van het monster worden onder de stereomicroscoop met geschikte vergrotingen (8* tot 50*) onderzocht op de aanwezigheid van specifieke bestanddelen van diermeel, vleesbeendermeel, beendermeel, vismeel of pluimveeslachtafvalmeel. Deze worden daarbij op hun uiterlijke fysische kenmerken (vorm, kleur, deeltjesgrootte, hardheid, textuur, geur, etc.) geïdentificeerd.
Het gedroogde sediment wordt eveneens stereomicroscopisch onderzocht met name op de aanwezigheid van beenderfragmenten, graten, schelpgruis, etc.

B. Microscopisch onderzoek

Voor de identificatie van diermeel, vleesbeendermeel, beendermeel, vismeel en pluimveeslachtafvalmeel is het noodzakelijk om hiervan een aantal microscopische preparaten te maken met name van de fijne fractie (bloemfractie). Het microscopisch onderzoek er van dient plaats vinden bij verschillende vergrotingen (100*, 160* en 400*) met en zonder gepolariseerd licht. Ook van het sediment worden preparaten gemaakt. Onderzocht worden preparaten met de volgende reagentia en insluitmiddelen:

Joodkaliumjodide-oplossing:

2 g kaliumjodide, 1 g jodium in 300 ml water. Reagens voor het aantonen van eiwitten (geel) en zetmeel (blauw).

Kaliumhydroxide-oplossing:

2,5 g in 100 ml water. Sterk ophelderingsmiddel bijvoorbeeld voor het oplossen van kitbestanddelen in dierlijke produkten waardoor details beter zichtbaar worden.

Chloralhydraat-oplossing:

80 g chloralhydraat in 50 ml water. Een kleine hoeveelheid materiaal wordt hierbij gesuspendeerd in enkele druppels chloralhydraat en vervolgens wordt voorzichtig verhit tot kookpunt. Na afkoelen wordt een druppel chloralhydraat als inbedmiddel aan het preparaat toegevoegd.
Sterk ophelderingsmiddel waardoor cellelulaire strukturen duidelijker kunnen worden waargenomen.

Loodacetaatoplossing:

2 g loodacetaat in 100 ml natronloog 10%. Reagens voor het aantonen van zwavelhoudende aminozuren (cystine- en cysteine) in keratine b.v. van hoornbestanddelen. Het geeft daarmee een zwart neerslag van loodsulfide (PbS). Het reagens is beperkt houdbaar.

Paraffineolie:

Insluitmiddel waarmee de met luchtgevulde lacunen in fragmenten van beenderen en graten duidelijk zichtbaar worden.

Oil Red O-oplossing:

0,5 g Oil Red O in 100 ml 2-propanol. Kleurreagens voor de selectieve kleuring van vet en olie.

De microscopische identificatie van dierlijke produkten begint met een onderzoek bij een vergroting van 100* naar diagnostisch bruikbare elementen.

2.2.3 Opnametechniek

Van de verschillende bestanddelen uit het diermeel, vleesbeendermeel, beendermeel, vismeel en pluimveeslachtafvalmeel worden microscopische c.q. stereomicroscopische opnamen gemaakt. Hierbij wordt gebruik gemaakt van een CCD-camera en een databankprogramma ('Treasury Imaging Database').

De beelden zijn vastgelegd in TIF-formaat (16 bit, 33768 kleuren). Opgeslagen beelden worden uitgeprint met een kleurenprinter (NEC Colormate PS/80 in 300 dpi) (Zie Bijlage).

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Diermeel

Samenstelling

Diermeel is het produkt, dat wordt verkregen door het drogen, verhitten en fijnmalen van warmbloedige landdieren of delen daarvan, al dan niet ontvet door middel van extractie of langs fysische weg. Het produkt moet nagenoeg vrij zijn van haren, borstels, veren, hoeven en hoorn, alsmede van maag- en darminhoud.

Gehalte aan ruw eiwit, $\geq$ 500 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan fosfor (P), normaal $\leq$ 55 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan onoplosbare as, $\leq$ 30 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan chloor als chloride, $\leq$ 15 g/kg in de droge stof.

Produkten met een vetgehalte > 110 g/kg in de droge stof worden "vetrijk diermeel" genoemd [11].

Stereomicroscopische identificatie

Diermeel bestaat uit een poedervormig tot grofkorrelig produkt waarvan de kleur varieert al naar gelang de bereiding van donkerbruin (produkten die verkregen zijn door koken in vloeistof) tot grijsbruin of geel (produkten die verkregen zijn door verhitting). Donkergekleurde produkten bevatten soms meer bloedbestanddelen. Bij diermeel, dat bereid is door koken in vloeistof (extract diermeel), kleven de deeltjes meer aan elkaar dan bij diermeel, dat bereid is door verhitting. Extract diermeel heeft meer glazige brokjes (ingedikt extract) dan gewoon diermeel. Het produkt heeft een vetachtige glans door het aanwezige vet. Diermeel, en dit geldt ook voor vleesbeendermeel, heeft dikwijls een sterke karakteristieke, soms onaangename weeë geur. Deze typische geur kan een aanwijzing zijn dat in een mengvoeder diermeel is verwerkt.

Stereomicroscopisch zijn verschillende soorten deeltjes naast elkaar vast te stellen zoals van spierweefsel, been, kraakbeen, bindweefsel en verder gedroogd bloed en soms delen van hoeven- en hoorn, haren en inhoud van verteringsorganen. Het produkt heeft dus geen homogeen uiterlijk maar bestaat uit een ingedroogde brei van allerlei weefsels en orgaandelen.

Spierweefsel

Spierweefsel bestaat uit lichtbruine of donkerbruine vezels, die los of in kluitjes voorkomen. In diermeel zijn verder harde, glazige , glanzende, semitransparante bruingele gelatinedeeltjes aanwezig.

Beenderen

De aanwezigheid van beenderbestanddelen is gemakkelijk vast te stellen. Het zijn harde, vaak grove partikels, bruingrijs of lichtbruin van kleur met een onregelmatige vorm, ronde randen en een glad, glanzend oppervlak. In tegenstelling tot zoogdierbotten breken pluimveebotjes met splinterende of scherpe randen door. Het gehalte aan beenderbestanddelen mag een bepaalde grens niet overschrijden. Is het asgehalte hoger dan 25% (berekend op de droge stof) dan moet het produkt vleesbeendermeel genoemd worden. Een scherp onderscheid tussen diermeel en vleesbeendermeel is stereomicroscopisch en ook microscopisch niet te maken. Vooral niet als het asgehalte in de buurt van de 25% ligt.

Bloed

Gedroogde bloedpartikels zijn onregelmatig van vorm, donkerbruin tot gitzwart, glanzend en soms enigszins transparant. Vaak hebben ze scherpe breukranden. Bloeddeeltjes komen voor in diermeel en pluimveeslachtafvalmeel maar niet in vismeel. Een grote hoeveelheid hiervan geeft het diermeel een donkere kleur.

Hoorn en hoeven

Hoorn- en hoevenmeel mogen slechts als geringe verontreinigingen in dierlijke produkten als diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel voorkomen. Het zijn grijze, zwarte of barnsteenachtige harde schilfers met soms op het oppervlak golvende lijnen (sutuurlijnen). Macroscopisch gelijken hoorn- en hoeffragmenten op beenderfragmenten. De barnsteenachtige deeltjes lijken sterk op gelatine. Ze kunnen hiervan worden onderscheiden door het verwarmen van de deeltjes in kaliumhydroxide-oplossing (2,5%). Hoorndeeltjes en hoevendeeltjes blijven hierin nagenoeg ongewijzigd terwijl gelatinedeeltjes opzwellen en struktuurloos zijn. Hoorn- en hoevenpartikels drijven op tetrachloorkoolstof; beenderfragmenten bezinken hierin. In kokend water zwelt hoorn praktisch niet op, kraakbeen wel.

Haren

In diermeel kunnen ook haren van met runderen of varkens voorkomen. Het zijn dunne hoornachtige cilindervormige deeltjes met een glad en glanzend oppervlak.

Inhoud verteringsorganen

Meestal bevindt zich in diermeel een geringe hoeveelheid plantaardig materiaal bestaande uit de onverteerde voederresten uit het spijsverteringskanaal van de in het produkt verwerkte dieren. Het betreft zwarte en vervormde bestanddelen van bijvoorbeeld snijmais, gras of krachtvoederbestanddelen zoals maiszemelen, zonnebloemzaaddopjes, raapzaadschilletjes en sojaschillen.

Microscopische identificatie

Diermeel bestaat voor een groot gedeelte uit spierweefsel. Daarnaast komen nog aanzienlijke hoeveelheden pezen, kraakbeen, been en vet voor. Ook andere bestanddelen zoals hoorn en hoeven, haren, veren, bloed en de inhoud van de verteringsorganen kunnen voorkomen, zij het dat deze bestanddelen slechts als geringe verontreinigingen worden toegestaan.

Spierweefsel

Spierweefsel bestaat uit bundels van tegen elkaar aanliggende langgerekte spiervezels, vaak omgeven door bindweefsel. Het karakteristieke kenmerk van deze bundels en vezels is de dwarsstreping. Daarnaast komt ook gladspierweefsel voor, dat afkomstig is van de ingewanden. De doorsnede van de dwarsgestreepte spiervezels van warmbloedige dieren bedraagt 20-50 μm. Vissen hebben in het algemeen grotere vezels (10-120 μm). Een onderscheid tussen zoogdier-, vogel- en visspierweefsel op grond van de vezelstruktuur schijnt echter niet mogelijk te zijn. Door het steriliseren van diermeel bij hogere temperaturen wordt de dwarsstreping slechts matig beïnvloed. Met de joodkaliumjodide-oplossing wordt het weefsel geel tot bruin gekleurd.

Het zogenaamde gladspierweefsel, dat met de ingewanden in het diermeel komt, bestaat uit dunne vezels van 4-7 μm dik. In het microscopisch beeld lijkt dit weefsel sterk op parallel-vezelig fibrillair bindweefsel. Preparaten kunnen ook gemaakt worden met chloralhydraat en met kaliumhydroxide. Na verwarmen wordt het microscopisch beeld sterk opgehelderd. Een nadeel van chloralydraat is dat met beenderen en carbonaten gasbelletjes in het preparaat ontstaan, die storend werken. In een loogpreparaat is een zwelling van het materiaal te verkrijgen, waardoor de details beter zichtbaar worden.

Beenderen

Been is samengesteld uit lamellen die in ringen rond een klein kanaal, het kanaal van Havers, gerangschikt zijn. Hierdoor passeren de bloedvaten in de lengterichting van het been. Tussen de lamellen bevinden zich open ruimten, de lacunen. De lacunen zijn ontstaan uit de oorspronkelijke beencellen. Het zijn ronde tot elliptische gaatjes. Bij visgraten zijn de lacunen spleetvormig. Het aantal lacunen in zoogdierbotten is meestal groter dan in pluimveebotjes. Ze staan met elkaar in verbinding door zogenaamde canaliculi. Hierdoor krijgen de lacunen een spinnewebvormig uiterlijk. Door de canaliculi vindt het transport van vloeistoffen plaats naar alle delen in het been. Bij grotere vergrotingen zien de lacunen er uit als met luchtgevulde ruimten, meestal zwart tegen een grijze achtergrond. In een paraffineolie-preparaat zijn deze lacunen duidelijk waarneembaar. De canaliculi schijnen als fijne draadjes uit te stralen van uit de lacunen. Zowel bij zoogdierbotjes als bij pluimveebotjes zijn ze uiterst klein en moeilijk waarte nemen. In graten daarentegen zijn ze meestal al zeer duidelijk bij een vergroting van 100* te zien.

Voor het identificeren van beendermateriaal kan men gebruik maken van het sediment. Op grond van het gehalte aan botbestanddelen in het sediment kan onderscheid gemaakt worden tussen diermeel en vleesbeendermeel. Aangenomen wordt dat er sprake is van diermeel als het sediment minder dan 25% bedraagt en nagenoeg volledig uit botbestanddelen bestaat. In Duitsland maakt men dit onderscheid reeds bij 15% sediment.

Bindweefsel

Bindweefsel bestaat uit zogenaamde fibrocyten. Deze zijn in het microscopisch beeld waarneembaar als collagene of elastische vezels. Tussen deze vezels bevindt zich een ongestructureerde intercellulaire stof. De collagene vezels bestaan uit zeer fijne (0,2-0,5 μm), in niet-gespannen toestand, gegolfde fibrillen. Door loog wordt de kitsubstantie opgelost en zwellen de vezels op. Bij koken wordt het collageen omgezet in lijm, dat volledig amorf is en dat na drogen mogelijk door bepaalde spanningen dubbelbreking vertoont

in gepolariseerd licht. De elastische vezels zijn duidelijk grover. Ze kunnen zich vertakken en een wijdmazige netstruktuur vormen. Ze zijn veel resistenter tegen zuren en logen dan collagene vezels. Los bindweefsel bestaat uit ongerichte collagene en elastische vezels. Compact bindweefsel daarentegen uit een groot aantal gelijk georiënteerde elastische vezels. Dit komt o.a. voor in de huid, orgaankapsels en vaatwanden. Pezen worden bijna uitsluitend uit gelijk georiënteerde netvormig vertakte elastische vezels gevormd.

Kraakbeen

Alleen de verkalkte kraakbeensubstantie doorstaat eniger mate een hitte- en dampbehandeling. Dit betekent dat kraakbeenfragmenten in een diermeel als zodanig niet worden teruggevonden, maar dat zich in een diermeel gelatineachtige bestanddelen bevinden, die vermoedelijk van kraakbeen afkomstig zijn.

Hoorn en hoeven

In diermeel zien hoorn- en hoevenbestanddelen eruit als donkergrijze, zwarte of gele stukjes met een groot aantal parallel lopende lijnen. Hoorn- en hoevendeeltjes hebben dikwijls een andere kleur dan kraakbeendeeltjes, maar bovenal zijn ze gekenmerkt door een vezelige struktuur. Soms lijken ze op gelatineachtig weefsel. Dit laatste heeft een relatief glad oppervlak. Microscopisch is er bij hoorn- en hoevendeeltjes echter een groot aantal door elkaar lopende spleten waarneembaar. Dikke hoorndelen zijn vaak bladachtig of vezelig gestruktureerd. Hoorn wordt bij het verwarmen weliswaar vervormbaar maar het doorstaat matig autoclaveren toch redelijk goed. In het microscopisch beeld valt hoorn ook op doordat het sterk dubbelbrekend is in gepolariseerd licht. Op het oppervlak zijn vaak sutuurlijnen zichtbaar. Het gaat daarbij om de randen van de uitstekende zeer platte hoorncellen. Tussen de verschillende lagen bevinden zich spleten en verspreid liggen er kleine openingen zogenaamde mergkanalen. Hoorn is redelijk bestand tegen zuur en loog.
Hoorn- en hoevenbestanddelen kunnen worden geïdentificeerd met de zogenaamde zwavelloodproef. Aan een strooipreparaat worden enkele druppels van een loodacetaatoplossing toegevoegd en vervolgens wordt voorzichtig verwarmd. Zwavelhoudende amininozuren (cystine en cysteine) uit het keratine van het hoornmateriaal veroorzaken een neerslag van zwart loodsulfide. Grotere hoorndelen worden snel door een dikke zwarte laag bedekt. Ook delen van veren en huidschilfers worden bruin tot zwartbruin. Bindweefsel (collageen) bevat geen cystine en blijft dan ook ongekleurd.

Vet

In het algemeen hebben dierlijke produkten een typische enigszins vettige geur. Het vet is in microscopische preparaten vaak storend aanwezig. Voor het maken van goede microscopische preparaten van andere bestanddelen in diermeel, kan men vaak beter het vet door extractie vooraf verwijderen bijvoorbeeld door een behandeling met een organisch oplosmiddel of aceton. Met name met het reagens Oil Red-O is het vet aantoonbaar.

Haren

Haren zijn verhoornde, epidermale vormingen van zoogdieren. In voedermiddelen komen haren als bestanddeel van diermeel voor, waarbij het in de regel om runder- en varkenshaar gaat. Een haar is opgebouwd uit een cuticula, schors en mergkanaal. Het mergkanaal wordt door een aantal cellen gevormd, die na afsterven van de haar voor een gedeelte intercellulaire maar vooral intracellulaire ruimten vormen, die met lucht gevuld zijn. De doorsnede van het merg is meestal rond of ovaal, soms ook stervormig zoals bij varkenshaar. Luchtinsluitingen geven de ongepigmenteerde haar een wit uiterlijk. De schorslaag bestaat uit spoelvormige cellen. De cuticula, het opperhuidje, bestaat uit een of meerdere lagen dunne kleurloze schubvormige cellen, die dakpansgewijs over elkaar liggen. Haren zijn bijzonder vormvast. Men vindt ze in diermeel bijna steeds onveranderd terug. Microscopisch ziet men in de regel slechts de schorslaag van de haar en het met lucht gevulde mergkanaal. Haren zijn dubbelbrekend (anisotroop) in gepolariseerd licht wat veroorzaakt wordt door de cuticula.

3.2 Vleesbeendermeel

Samenstelling

Vleesbeendermeel is het produkt, dat wordt verkregen door het verhitten, drogen en malen van warmbloedige landdieren of delen daarvan, al dan niet ontvet door middel van extractie of langs fysische weg. Het produkt moet nagenoeg vrij zijn van haren, borstels, veren, hoeven en hoorn, alsmede van maag- en darminhoud.

Gehalte aan eiwit, 450 - 500 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan fosfor (P), $\leq$ 80 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan onoplosbare as, $\leq$ 30 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan chloor als chloride, $\leq$ 15 g/kg in de droge stof.

Produkten met een vetgehalte > 110 g/kg in de droge stof worden "vetrijk vleesbeendermeel" genoemd [11].

Stereomicroscopische identificatie

Vleesbeendermeel is een donkerbruin of zwart korrelig poeder. De meeste monsters zijn tamelijk vettig. De geur is vaak sterker dan van diermeel, maar deze mag niet ranzig of bedorven zijn. Vleesbeendermeel bestaat voor een gedeelte uit spierweefsel. Daarnaast komen echter aanzienlijke hoeveelheden been en vet voor. De deeltjes zijn meestal verschillend van grootte. De grotere delen zijn tamelijk ruw. De beenderbestanddelen lijken wat op doffe, witte, grijze of lichtbruine, steenachtige stukjes. Bij grotere vergrotingen lijken de botbestanddelen compacte, gespikkelde, enigszins transparante (afhankelijk van de dikte) brokstukjes met afgeronde randen. Voor de beschrijving van de stereomicroscopische identificatie van vleesbeendermeel zie onder § 3.1 Diermeel.

Microscopische identificatie

Dezelfde bestanddelen als in diermeel komen in vleesbeendermeel voor alleen het gehalte aan beenderbestanddelen is hoger. In het microscopische preparaat zijn vaak spiervezels, botbestanddelen, haren, bloed en gelatineachtige stoffen en dergelijke terug te vinden. Voor de beschrijving van de microscopische identificatie van deze bestanddelen zie onder § 3.1 Diermeel.

3.3 Beendermeel

Samenstelling

Beendermeel is het produkt, dat wordt verkregen door het drogen, verhitten en fijnmalen van - door middel van extractie of langs fysische weg - vergaand ontvette beenderen van warmbloedige landdieren. Het produkt moet nagenoeg vrij zijn van haren, borstels, veren, hoorn en hoeven, alsmede van maag- en darminhoud.

Gehalte aan ruw eiwit, $\geq$ 240 g/kg in de droge stof;

Gehalte aan onoplosbare as, $\leq$ 30 g/kg in de droge stof [11].

Ontlijmd beendermeel

Naast gewoon beendermeel komt als veevoedergrondstof ook ontlijmd beendermeel voor.

Ontlijmd beendermeel is het produkt dat wordt verkregen door het ontvetten, ontlijmen en steriliseren van gemalen beenderen [11]. Terwijl beendermeel tot de rubriek "Produkten van landdieren" wordt ontlijmd beendermeel wordt gerekend tot de rubriek "mineralen".

Stereomicroscopische identificatie

Beenderen

Beendermeel bestaat per definitie voornamelijk uit beenderfragmenten. Dit zijn steenachtige witte, grijze of lichtbruine beenderstukjes met een glad of matig ruw oppervlak. Bij grotere vergrotingen lijken de botbestanddelen compacte, grijze, opaliserende of doorzichtige (afhankelijk van de dikte), gespikkelde brokstukken met afgeronde randen. Voor de beschrijving van de stereomicroscopische identificatie van beendermeel zie onder § 3.1 Diermeel.

Verontreinigingen

Het produkt is vaak enigszins verontreinigd met plantaardige vezels en wat hoeven- en hoornmeel (gele en zwarte partikels). In tetrachloorkoolstof of chloroform bezinkt nagenoeg alle materiaal.

Spierweefsel, bindweefsel, kraakbeen, e.d.

Zowel beendermeel als ontlijmd beendermeel bevatten een gering percentage spierweefsel- en bindweefselresten. Behalve beenderfragmenten en wat spierweefseldeeltjes treft men ook doorzichtige kraakbeendeeltjes aan en soms wat hoornbestanddelen. Voor de beschrijvingen van de stereomicroscopische identificatie hiervan zie onder § 3.1 Diermeel.

Ontlijmd beendermeel

Beendermeel dat ontlijmd is wordt bros. Met een pincet kan men onder een stereomicroscoop de ontlijmde botjes fijn drukken. Niet ontlijmd beendermeel is hard. Het gedeeltelijk ontlijmd beendermeel (met een eiwitgehalte van 25%) neemt hierbij een tussen positie in.

Brokjes ontlijmd beendermeel zijn dof, meestal mooi wit, soms ook wat geelachtig. Niet ontlijmde brokjes zijn nooit zo mooi wit en verder meer doorschijnend of vettig.

Microscopische identificatie

Beenderen

Microscopisch zijn beenderbestanddelen duidelijk te herkennen aan de kanalen van Havers en de voornamelijk elliptische maar ook ronde lacunen. Opvallend zijn ook de van uit de lacunen uitgaande fijne en voor een deel anastomoserende kanalen, die de lacunen een spinnewebvormig uiterlijk geven. In tegenstelling tot bij graten van bepaalde vissoorten zijn deze kanaaltjes niet vertakt. De lacunen zijn met name in een paraffineoliepreparaat duidelijk waar te nemen omdat ze voor een deel met lucht gevuld zijn. Voor de beschrijving van de microscopische identificatie zie ook § 3.1 *Beenderen.*

In het chloralhydraatpreparaat en ook in het loogpreparaat zijn bij gewoon beendermeel de lacunen donker en bij ontlijmd beendermeel doorzichtig. Bij gewoon beendermeel vallen ze dus dadelijk op, bij ontlijmd beendermeel is dit niet het geval. Ontlijmd beendermeel is altijd vrij van vet. Bij gewoon beendermeel is altijd vet aanwezig. Met het oil Red-O reagens is dit vast te stellen. Dit verklaard ook het verschil in glans tussen ontlijmd en gewoon beendermeel.

3.4 Vismeel

Samenstelling

Vismeel is het produkt, dat wordt verkregen door de bewerking van vissen of delen van vissen, waaraan een deel van de olie kan zijn onttrokken, maar waaraan het visperssap weer kan zijn toegevoegd.

Gehalte aan ruw eiwit, $\geq$ 550 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan koolzure kalk, berekend uit het gehalte aan met verdund zoutzuur vrij te maken kooldioxide, $\leq$ 28 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan chloor als chloride, $\leq$ 60 g/kg in de droge stof.

Gehalte aan onoplosbare , $\leq$ 30 g/kg in de droge stof.

Produkten met een ruw eiwitgehalte > 750 g/kg in de droge stof mogen "eiwitrijk" worden genoemd [11].

Stereomicroscopische identificatie

Vismeel bestaat uit een poedervormig tot grofkorrelig produkt. De kleur kan variëren van geel tot donkerbruin of zwart met een vetachtige glans. Zeer opvallend is altijd de typische visgeur. Vismeel vertoont wat betreft kleur, vettige glans en vezelige struktuur overeenkomsten met diermeel en vleesbeendermeel.

Stereomicroscopisch zijn in vismeel verschillende soorten deeltjes vast te stellen zoals spierweefselpartikels, graten en visschubben en soms gehoorsteentjes, viseieren (kuit) en verontreinigingen zoals schelpgruis, zeewier en garnaal- en krabfragmenten.

Spierweefsel

Het spierweefsel in vismeel bestaat uit lichte, dunne, semitransparante vezels. Deze liggen los of in bundels. De spiervezels kunnen ook opgenomen zijn in bindweefselstolsels, die bij het verhitten (steriliseren) van het vismeel ontstaan zijn.

Graten

De graten in vismeel bestaan uit onregelmatige matte, witte of grijze deeltjes, waarvan sommige langwerpig en puntig zijn en andere licht afgerond. Ook hele en gebroken werveltjes komen voor. Het kraakbeen in vismeel bestaat uit platte, semitransparante deeltjes met een melkwitte kleur, soms lichtblauw en met een parelachtig glanzend, glad oppervlak.

Schubben

De schubben variëren in vorm, grootte en struktuur. Bij beenvissen *(Teleostei)* zijn de schubben zilverachtige, glanzende, platte of enigszins opgerolde schilfers, vaak met gekartelde randen. Op de schubben bevinden zich concentrische groeistrepen. Bij kraakbeenvissen *(Elasmobranchii)* hebben de schubben huidtandjes waarvan het ene uiteinde puntig is en het andere einde vlak (placoidschubben).

Eieren

De eieren (kuit) bestaan uit bruine bolletjes van verschillende afmetingen met een rimpelig oppervlak.

Gehoorsteentjes

Gehoorsteentjes (otolieten) zijn parelwitte deeltjes met een lengte van 1 mm - 20 mm. Ze bestaan voor een groot gedeelte uit calciumcarbonaat. Met verdund zoutzuur onstaan koolzuurgasbelletjes in het preparaat. In vismeel worden meestal geen hele gehoorsteentjes aangetroffen maar uitsluitend brokstukjes ervan. Met name in het sediment zijn de melkwitte, zwak gestreepte brokstukjes met scherpe randen gemakkelijk te identificeren.

Microscopische identificatie

Zowel vismeel als diermeel bestaan voornamelijk uit gedroogde spierweefselpartikels. De spiervezels van vissen en landzoogdieren zijn in vismeel en in diermeel microscopisch moeilijk van elkaar te onderscheiden.

Diermeel onderscheidt zich van vismeel door de aanwezigheid van haren, hoeven, hoorn, stukjes van veren en bloedpartikels.

Vismeel onderscheidt zich van diermeel met name door de aanwezigheid van graten en schubben en soms door de aanwezigheid van gehoorsteentjes en kuit en verder van verontreinigingen zoals schelpgruis, zeewier, garnaal- en krabfragmenten.

Spierweefsel

Het spierweefsel bestaat uit kleurloze, transparante vezels met een doorsnede van 10 - 120 μm en met een fijne dwarstreping, die niet altijd zichtbaar is. Voor de beschrijving van de microscopische identificatie van spierweefsel zie ook § 3.1 *Spierweefsel.*

Graten

Graten zijn in vergelijking met de beenderen van zoogdieren klein. In gemalen vismeel zal men in verhouding meer stukjes van de graten aantreffen dan beenderfragmenten in diermeel. Het oppervlak van de graat is glad. Aan dit gladde oppervlak en de vorm kan men de graat meestal herkennen. Ook de punten van een graat zijn kenmerkend. Verder zijn graten meer transparant dan beenderfragmenten. Door de doorzichtige struktuur zijn de details slecht waarneembaar. Microscopisch kan men het verschil tussen beenderen en graten vast stellen aan de vorm van de lacunen. Bij zoogdieren, vogels en ook reptielen en amfibieën hebben de lacunen een ronde tot elliptische vorm met talrijke uitlopers naar alle zijden. In een paraffineoliepreparaat ziet een botfragment er dus steeds donkergestippeld uit. In beenfragmenten van slechts 100 μm zijn al meerdere lacunen aanwezig. Bij beenvisssen bezitten de *Clupeoideae* (haring, ansjovis), de *Cyprinoideae* (karper) en de *Salmonideae* (zalm, forel) nog celvormige graten. De lacunen zijn langwerpig en hebben een gering aantal en voor een gedeelte sterk vertakte uitlopers (canaliculi). Van boven gezien lijken de lacunen op een spinneweb, van opzij meer draadvormig. Deze uitlopers zijn meestal moeilijk waar te nemen. Bij andere vissoorten b.v. de *Gadenoideae* (kabeljauw, schelvis) ontbreken de lacunen. Bij kraakbeenvissen zoals haai en rog (*Elasmobranchii*) wordt het kraakbeen onderbroken door kleine ronde lacunen zonder uitlopers. In behandeld materiaal lijken deze lacunen samengedrukt.

Schubben

De schubben van beenvissen *(Teleostei)* bestaan uit transparante plaatjes met een vezelige basale laag en een vaak gemineraliseerde bovenlaag. Deze laatste vertoont een karakteristieke struktuur van ringen en groeven. De placoidschubben van kraakbeenvissen *(Elasmobranchii)* hebben een puntig uiteinde op de schub, het huidtandje. De kleur van schubben is zilverachtig of ze vertonen interferentie door de aanwezigheid van guaninekristallen in de schub. Guanine kan voorkomen in dunne lagen en banden. In behandeld materiaal wordt dit verbrokkeld tot uiterst kleine in gepolariseerd licht sterk dubbelbrekende kristallen.

Gehoorsteentjes

Kleine fragmenten van gehoorsteentjes (otolieten) zijn te herkennen aan de gelaagde kristallijne struktuur met groeiringen. Ze bestaan uit dubbelbrekende (anisotrope) kristalnaalden die in gepolariseerd licht zeer duidelijk zijn waar te nemen.

3.5 Pluimveeslachtafvalmeel

Samenstelling

Pluimveeslachtafvalmeel is het produkt, dat wordt verkregen door het drogen en malen van afvallen van geslacht pluimvee. Het produkt moet nagenoeg vrij zijn van veren. Produkten met een vetgehalte > 130 g/kg in de droge stof worden "vetrijk" genoemd [11].

Stereomicroscopische identificatie

Pluimveeslachtafvalmeel bestaat uit een bruin tot bijna zwart, enigszins vetglanzend meel met een vezelige struktuur. Het produkt komt wat betreft geur, kleur, struktuur en samenstelling overeen met diermeel Het bevat vaak nog wat plantaardige bestanddelen van de maagdarminhoud. Verder bevat het meestal gemalen veren en gebroken eierschalen. De hoeveelheid veren in pluimveeslachtafvalmeel is niet groot. Per definitie dient het produkt nagenoeg vrij te zijn van veren [11]. In de praktijk blijkt echter dat in pluimveeslachtafvalmeel steeds veerelementen aanwezig zijn.
Het ontbreken van haren, hoeven en hoorn in pluimveeslachtafvalmeel is een onderscheid tussen pluimveeslachtafvalmeel en diermeel.

Veren

Omdat niet geautoclaveerd wordt, zijn de gemalen veerbestanddelen onveranderd aanwezig. Het is echter mogelijk dat door de bewerking van het produkt denaturering van het keratine is opgetreden. Sommige veerbestanddelen lijken op haren, andere op plastic buisjes. Vaak zijn baarden en baardjes van de schacht van de contourveren afgebroken, waardoor deze een getand of gezaagd uiterlijk hebben.

Pluimveebotjes

De botsplinters van pluimvee verschillen enigszins met die van zoogdieren. Ze zijn minder compact en hebben een groter centraal mergkanaal dan beenderen van runderen en varkens. Grotere stukken bot hebben soms een honingraatachtig binnenoppervlak. Het is soms mogelijk om de dikte te meten van de buitenzijde van het bot vanuit deze holte. Pluimveebotjes splinteren bij het malen zeer sterk tot hoekige fragmenten met scherpe randen en splinters.

Gemalen eierschalen

In pluimveeslachtafvalmeel kunnen ook gemalen eierschalen voorkomen. Deze zijn gemakkelijk herkenbaar aan de matte, witte kleur, de licht convexe vorm van de deeltjes, de brosse zachte struktuur en de putjes in het rimpelig oppervlak. In verdund zoutzuur (10%) lossen eierschalen bruisend op onder vorming van koolzuurgas.

Microscopische identificatie

Microscopisch zijn er overeenkomsten van pluimveeslachtafvalmeel met diermeel met name wat betreft het spierweefsel. Zowel diermeel als pluimveeslachtafvalmeel bestaan voornamelijk uit spierweefselpartikels.

Diermeel onderscheidt zich van pluimveeslachtafvalmeel met name door de aanwezigheid van haren, hoorn- en hoevenfragmenten. Pluimveeslachtafvalmeel onderscheidt zich van diermeel door de aanwezigheid van delen van veren en eierschalen.
In het sediment wordt bij pluimveeslachtafvalmeel een overvloed aan botsplinters gevonden.

Spierweefsel
De microscopische struktuur van spierweefsel van pluimvee komt overeen met die van zoogdieren. De kleurloze, semitransparante vezels zijn 20-50 μm breed. Ze komen los of in bundels voor. De dwarsstreping is niet altijd duidelijk waar te nemen. Zie voor de microscopische identificatie ook § 3.1 *Spierweefsel.*

Veren
De veerbestanddelen in pluimveeslachtafvalmeel bestaan uit grotere en kleinere fragmenten van contourveren en donsveren. Een contourveer bestaat uit een holle spoel (calamus), die overgaat in de schacht. Deze vertakt zich in baarden (rami) en deze weer in kleinere zijbaardjes (radii). De laatste zijn door haakjes (radioli) met elkaar verbonden. De baarden en baardjes bestaan uit matte, semitransparante, cilindervormige buisjes, die uit segmenten bestaan met daartussen bamboe-achtige knopen. Bij de donsveren ontbreken de schacht, de zijbaardjes en haakjes. De donsveren bestaan uit gladde buisjes (donsstralen) van circa 5 μm dik. Ze zijn opgebouwd uit segmenten van 30-60 μm lengte met bamboe-achtige knopen. De lengte van de donsstralen ligt tussen de 0,2-3 mm.
De microscopische identificatie ook van de kleinste veerfragmenten is vrij eenvoudig. In gepolariseerd licht zijn de fragmenten dubbelbrekend (anisotroop). Door een hittebehandeling van het produkt kan deze dubbelbreking zwakker worden en zelfs verdwijnen. In pluimveeslachtafvalmeel worden naast de ruwe onbehandelde veerfragmenten ook fragmenten aangetroffen waarvan het keratine geheel of gedeeltelijk is gedenatureerd.

Pluimveebotjes
Fragmenten van pluimveebotjes verschillen enigszins van runder- en varkensbot, doordat ze minder compact zijn. Het zijn vooral hoekige en scherpe botsplinters. Microscopisch zijn het matte, halfdoorschijnende, grijze deeltjes met langwerpige en afgeplatte lacunen. Er is een bepaald onderscheid in de vorm en grootte van de lacunen met die van zoogdierbotten. Deze verschillen zijn echter onvoldoende voor een zekere identificatie. Voor het overige zijn er praktisch geen microscopische verschillen.

Eierschalen
Eierschalen zijn 300-350 μm dik. Ze bestaan voor 97% uit calciumcarbonaat, een kleine hoeveelheid andere mineralen en circa 2% eiwit. Microscopisch is vastgesteld dat de eierschaal uit twee morfologisch verschillende lagen is opgebouwd. De buitenste laag is de palissadelaag. Hierover bevindt zich een cuticula. In deze laag bevinden zich een aantal poriën. Na het oplossen van de eierschalen in bijvoorbeeld salpeterzuur (10%) en het toevoegen van geconcentreerd zwavelzuur (4 N) worden, na indampen tot randkristallisatie, bundels gipskristallen gevormd in het preparaat.

CONCLUSIES

- ☐ Uit het onderzoek blijkt dat dierlijke eiwitten afkomstig van zoogdieren i.c. diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel microscopisch te identificeren zijn. Een onderscheid tussen diermeel van herkauwers en diermeel van niet-herkauwers is microscopisch echter niet vast te stellen.

- ☐ Er zijn morfologisch en histologisch overeenkomsten van diermeel met zowel vismeel als met pluimveeslachtafvalmeel. Met name van de spiervezels is het niet mogelijk om de herkomst (diersoort) microscopisch vast te stellen.

- ☐ Aan de hand van de histologische kenmerken van de beenderen en graten is een onderscheid te maken tussen diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel enerzijds en vismeel anderzijds.

- ☐ Diermeel onderscheidt zich tevens van vismeel door de aanwezigheid van delen van haren, hoorn, hoeven en bloed.

- ☐ Vismeel onderscheidt zich van diermeel en van pluimveeslachtafvalmeel door de aanwezigheid van schubben, gehoorsteentjes, viseieren en verontreinigingen zoals schelpgruis, zeewier, garnaal- en krabfragmenten.

- ☐ De identificatie van pluimveeslachtafvalmeel berust op de microscopische identificatie van niet-gedenatureerde bestanddelen van veren en de aanwezigheid van gemalen eierschalen.

- ☐ Uit het onderzoek kan worden afgeleid dat de controle op de aanwezigheid van dierlijke eiwitten i.c. diermeel, vleesbeendermeel en beendermeel in voeders voor herkauwers door middel van microscopisch onderzoek mogelijk is.

LITERATUUR

1. Beschikking 94/381/EG van de Commissie betreffende bepaalde beschermende maatregelen ten aanzien van boviene spongiforme encefalopathie en het vervoederen van van zoogdieren afkomstig eiwit. PB E.G. Nr. L 172/23 (1994).

2. Beschikking 95/60/EG van de Commissie tot wijziging van Beschikking 94/381/EG betreffende bepaalde beschermende maatregelen ten aanzien van boviene spongiforme encefalopathie en het voederen van van zoogdieren afkomstig eiwit. PB E.G. Nr. L 55/43 (1995).

3. Verordening Vvr Regeling verwerking dierlijke produkten in diervoeders 1994. Bundel Diervoederwetgeving in Nederland. Deel I: Overige regelingen, 12, 17-25. Produktschap voor Veevoeder, 's-Gravenhage (1996) .

4. Wolters, D.F., K.D.D. Den Haag (1996). Persoonlijke mededeling.

5. Vöhringer, H. Animal feeds - Animal constituents. In: J.G. Vaughan (ed.). Food Microscopy. Academic Press, London, etc. (1979) 425-443.

6. Vöhringer,H. Die mikroskopische Untersuchung von Fischmehlen auf Echtheit und Reinheit. Diss. Univers. Hohenheim (1958) 135 p.

7. Anon. Manual of microscopical analysis of feedstuffs. Sec. ed. Amer. Assoc. Feed Microscopists (A.A.F.M.) (1978) 59-74.

8. RSV A0678: Diervoeders - Reductie van het laboratoriummonster tot analysemonster ten behoeve van het microscopisch onderzoek. 2e editie. RIKILT-DLO, Wageningen (1994) 5 p.

9. RSV A0679: Diervoeders - Monstervoorbereiding voor het microscopisch onderzoek. 2e editie. RIKILT-DLO, Wageningen (1994) 8 p.

10. Official Methods of Analysis. Animal feed. Chapter 4. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington D.C. (1995) 29.

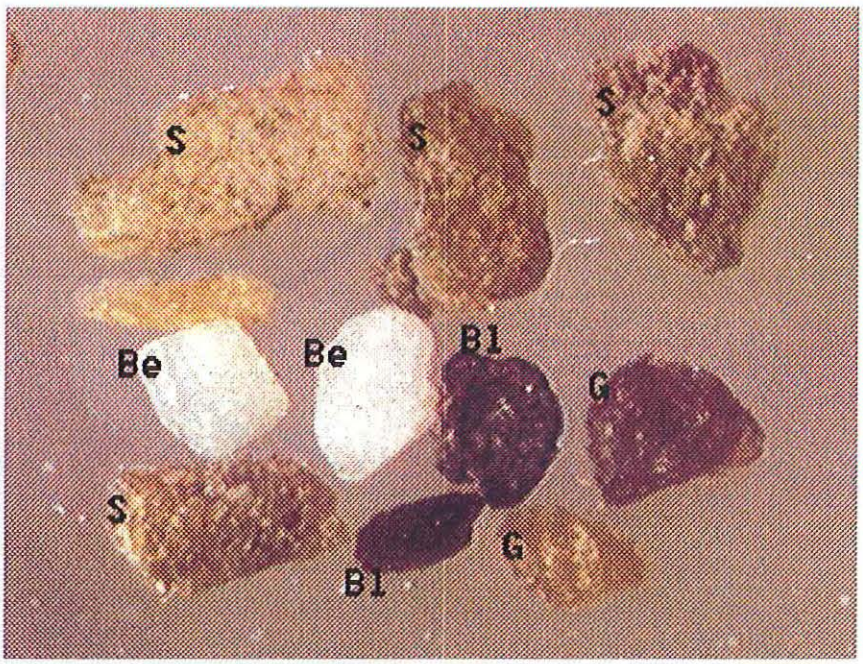
11. Lijst van enkelvoudige diervoedergrondstoffen. CVB-reeks nr. 17. Centraal Veevoederbureau (CVB), Lelystad (1994) 42-44.

BIJLAGE Afbeeldingen van de belangrijkste microscopische kenmerken van diermeel, vleesbeendermeel, beendermeel, vismeel en pluimveeslachtafvalmeel.

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Stereomicroscopische identificatie (20*)
Diermeel bestaat uit een poedervormig tot grofkorrelig licht- tot donkerbruin produkt met een vetachtige glans. In het diermeel komen voor deeltjes van spierweefsel (S , licht- tot donkerbruine vezels, los of in kluitjes), gelatine (G, harde glazige, glanzende, semitransparante, bruingele brokjes), beenderen (Be, harde, vaak grove partikels, bruingrijs tot witgrijs van kleur met een onregelmatige vorm en een glad glanzend oppervlak) en bloed (Bl, zwarte glanzende deeltjes met scherpe randen).



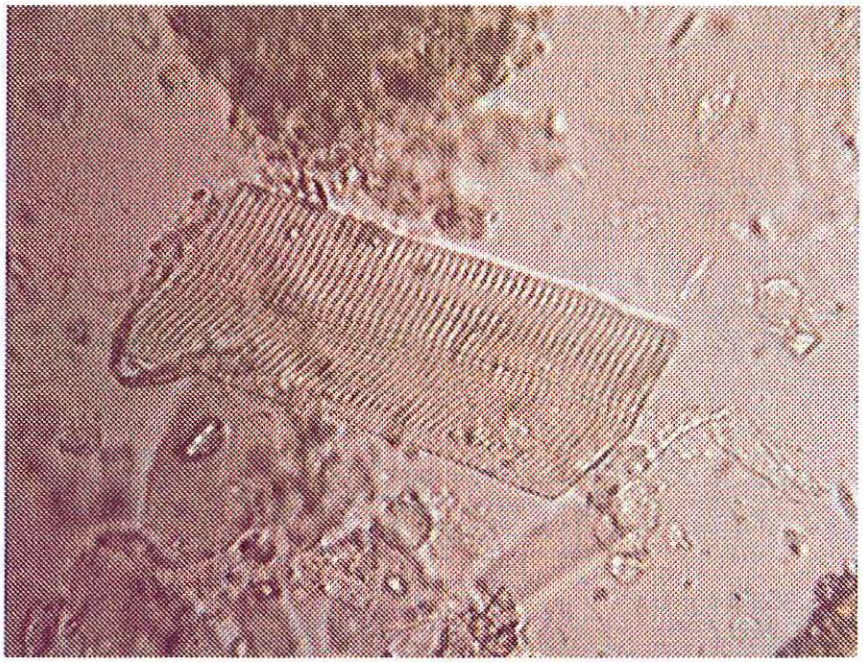
Verzamelnr.: OV DP-1

Image file: j:\dier1.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel, spiervezel

Microscopische identificatie (160*)
Chloralhydraatpreparaat.
Spierweefsel in diermeel bestaat uit bundels van tegen elkaar aanliggende en losliggende spiervezels. Het karakteristieke kenmerk van spiervezels is de dwarsstreping. De doorsnede van de dwarsgestreepte spiervezels van warmbloedige dieren bedraagt 20 tot 50 micrometer.



Verzamelnr.: OV DP-1

Image file: j:\dier2.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (160*)
Chloralhydraatpreparaat.
Compact bindweefsel bestaat uit een groot aantal gelijkgeorienteerde elastische vezels. Elastische vezels kunnen zich vertakken en een wijdmazige struktuur vormen. Ze zijn veel resistenter tegen zuur en loog dan collagene vezels.

Produktnaam: Diermeel

Verzamelnr.: OV DP-3

Image file: j:\dier3.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (400*)
Chloralhydraatpreparaat.
Collagene vezels bestaan uit zeer fijne (0,2 - 0,5 micrometer), in een niet-gespannen toestand, gegolfde fibrillen. Tussen de vezels bevindt zich een ongestructureerde intercellulaire stof. Door koken wordt het collageen omgezet in lijm, dat volledig amorf is en dat na drogen mogelijk door bepaalde spanningen dubbelbreking vertoont in gepolariseerd licht.

Produktnaam: Diermeel

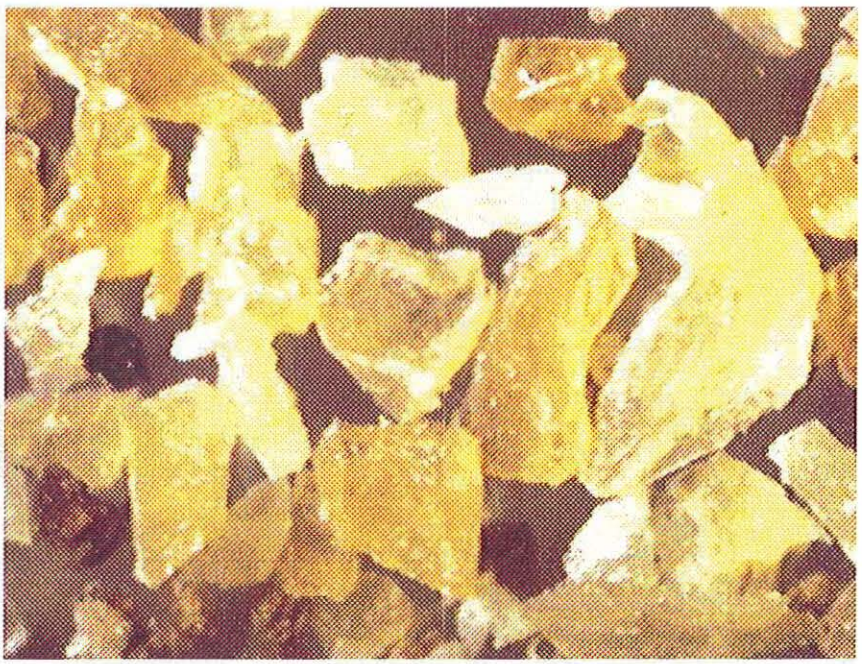
Verzamelnr.: OV DP-8

Image file: j:\dier4.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Stereomicroscopische identificatie (12*)
Kraakbeen - Alleen de verkalkte kraakbeensubstantie doorstaat eniger mate een hitte- en dampbehandeling. Kraakbeenfragmenten worden als zodanig niet in diermeel teruggevonden, maar in diermeel bevinden zich gelatineachtige bestanddelen, die vermoedelijk van kraakbeen afkomstig zijn.



Verzamelnr.: OV DP-9

Image file: j:\dier5.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Stereomicroscopische identificatie (8*)
Hoornpartikels zijn zwarte , grijze of gele transparante staafvormige en schiferachtige deeltjes. Het oppervlak vertoont soms ribbels en golvingen. Ze lijken soms op beenderfragmenten en de geelgekleurde deeltjes op gelatine.

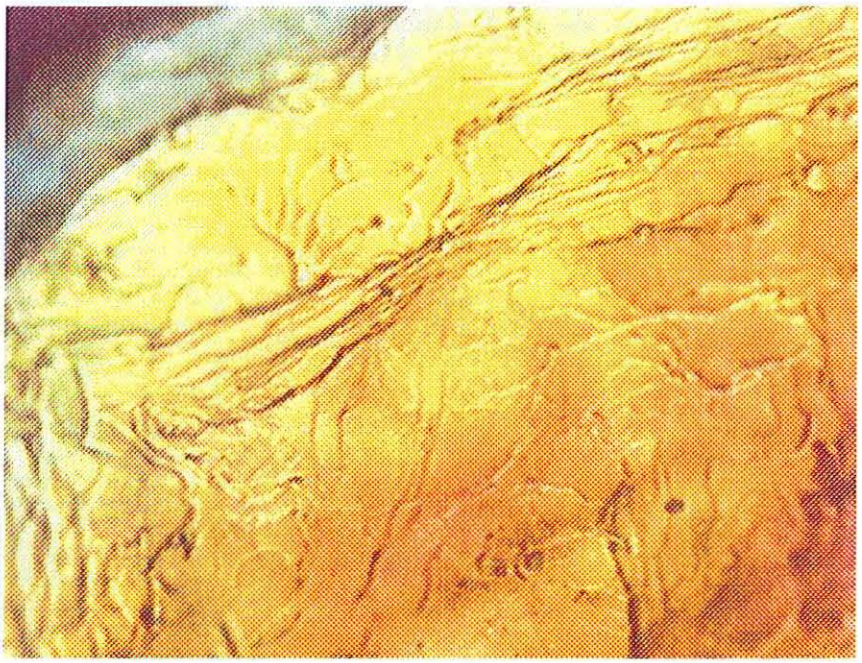
Verzamelnr.: OV DP-7

Image file: j:\dier6.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Microscopische identificatie (160*)
Paraffineoliepreparaat, gepolariseerd licht + Rood I.
Hoorn - Hoorndelen zijn bladachtig of vezelig gestructureerd. Microscopisch zijn op het oppervlak sutuurlijnen zichtbaar. Het gaat daarbij om de randen van de uitstekende zeer platte hoorncellen. Tussen de lagen bevinden zich spleten en verspreid liggen er kleine openingen zogenaamde mergkanalen. In het microscopisch beeld valt hoorn ook op doordat het dubbelbrekend is in geploariseerd licht.



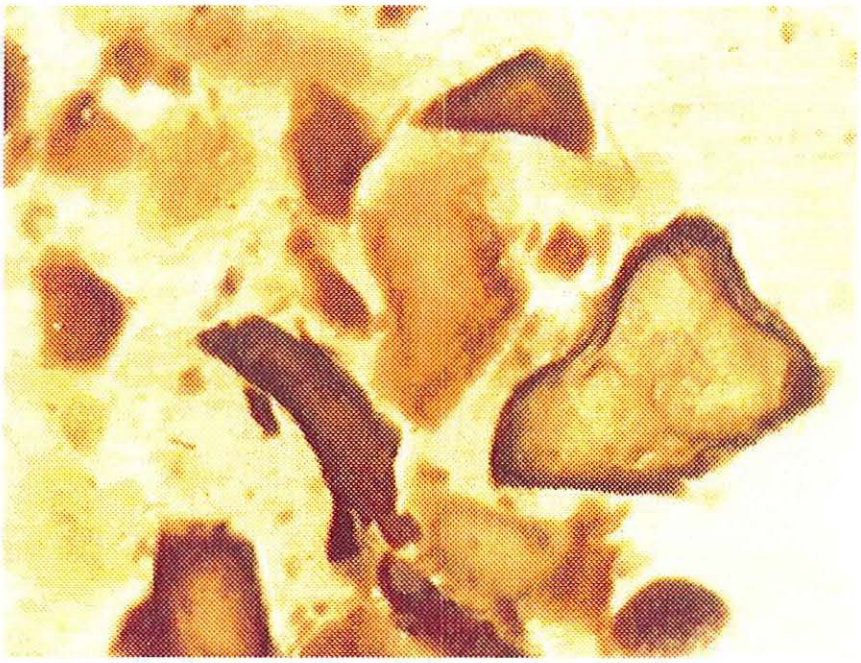
Verzamelnr.: OV DP-7

Image file: j:\dier7.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Stereomicroscopische identificatie (32*)
Spottest met loodacetaatreagens.
Hoorn- en hoevenbestanddelen kunnen worden geidentificeerd met de zwavelloodproef. Aan een strooipreparaat worden enkele druppels loodacetaatreagens toegevoegd. Na voorzichtig verwarmen ontstaat om de hoorn- en hoevendeeltjes door een reaktie met zwavelhoudende aminozuren (cysteine en cystine) een zwart neerslag van loodsulfide (PbS).



Verzamelnr.: LK H-9

Image file: j:\dier8.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel, been

Stereomicroscopische identificatie (32*)
Beenderfragmenten zijn harde, vaak grove partikels, wit, grijs, bruingrijs of lichtbruin van kleur met een onregelmatige vorm, ronde randen en een glad glanzend oppervlak.

Verzamelnr.: LK B-17

Image file: j:\dier9.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel, been

Microscopische identificatie (160*)
Paraffineoliepreparaat.
Botweefsel van zoogdieren wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van lamellen met daartussen open ruimten, de lacunen. Dit zijn ronde of elliptische gaatjes, die ontstaan zijn uit de oorspronkelijke beencellen. De lacunen staan met elkaar in verbinding door zogenaamde canaliculi. Hierdoor krijgen de lacunen een spinnewebvormig uiterlijk. Bij grotere vergrotingen zien de lacunen er uit als met luchtgevulde ruimten, meestal zwart tegen een grijze achtergrond. De canaliculi zijn uiterst fijn en moeilijk waarneembaar.

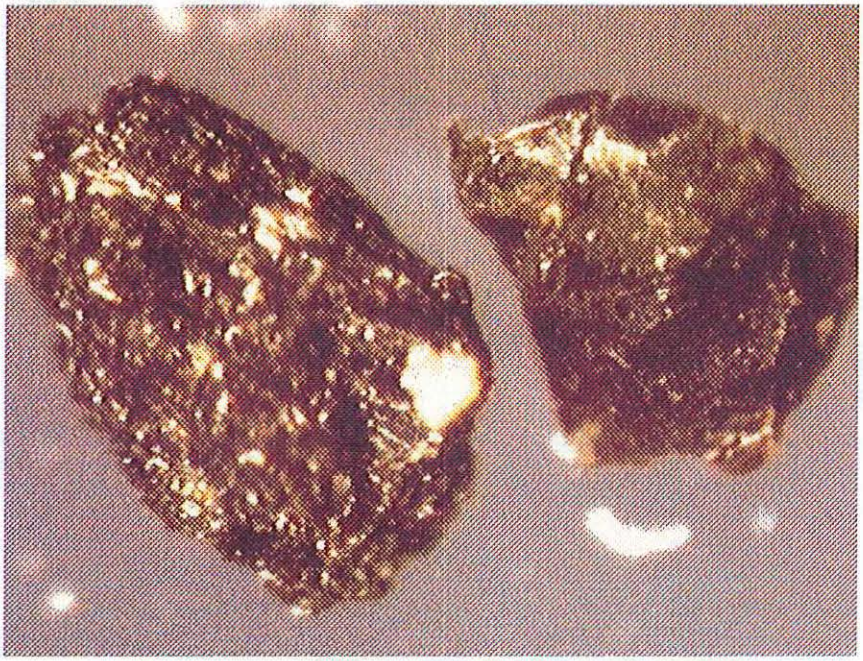
Verzamelnr.: LK B-17

Image file: j:\dier10.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Stereomicroscopische identificatie (50*)
Bloeddeeltjes komen alleen in diermeel voor en niet in vismeel. De deeltjes zijn onregelmatig van vorm, donkerbruin tot gitzwart, glanzend en transparant. Vaak hebben ze scherpe breukranden. Aan de deeltjes kleven andere weefsels uit het diermeel.



Verzamelnr.: OV DM-4

Image file: j:\dier11.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, haringmeel

Stereomicroscopische identificatie (12*)
Zowel vismeel als diermeel bestaan voornamelijk uit gedroogde spierweefseldeeltjes. Vismeel onderscheidt zich van diermeel door de aanwezigheid van graten en schubben en soms door de aanwezigheid van gehoorsteentjes en kuit en verder verontreinigingen zoals schelpgruis, zeewier, garnaal- en krabfragmenten.

Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier12.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, haringmeel

Microscopische identificatie (100*)
Joodkaliumjodidepreparaat.
Het spierweefsel bestaat uit kleurloze transparante vezels met een doorsnede van 10 tot 120 micrometer en met een fijne dwarsstreping, die niet altijd zichtbaar is. In een joodkaliumjodidepreparaat kleuren de spiervezels geel (eiwitkleuring).

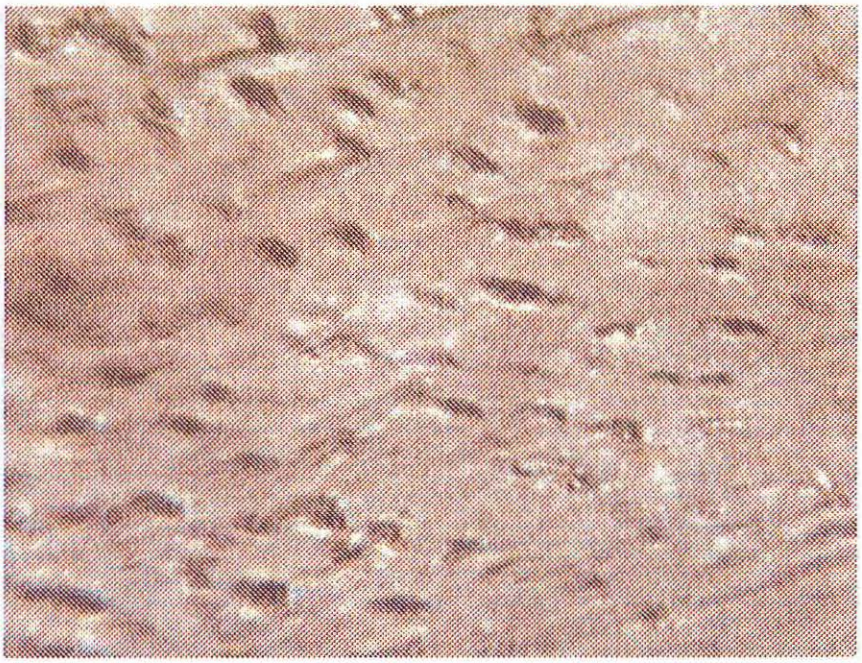
Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier13.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, graat

Microscopische identificatie (400*)
Paraffineoliepreparaat.
De lacunen in de graten van beenvissen zijn langwerpig. Ze hebben een gering aantal en voor een gedeelte sterk vertakte uitlopers. Van boven gezien lijken de lacunen op een spinneweb, van op zij meer draadvormig. De uitlopers zijn meestal moeilijk waar te nemen.



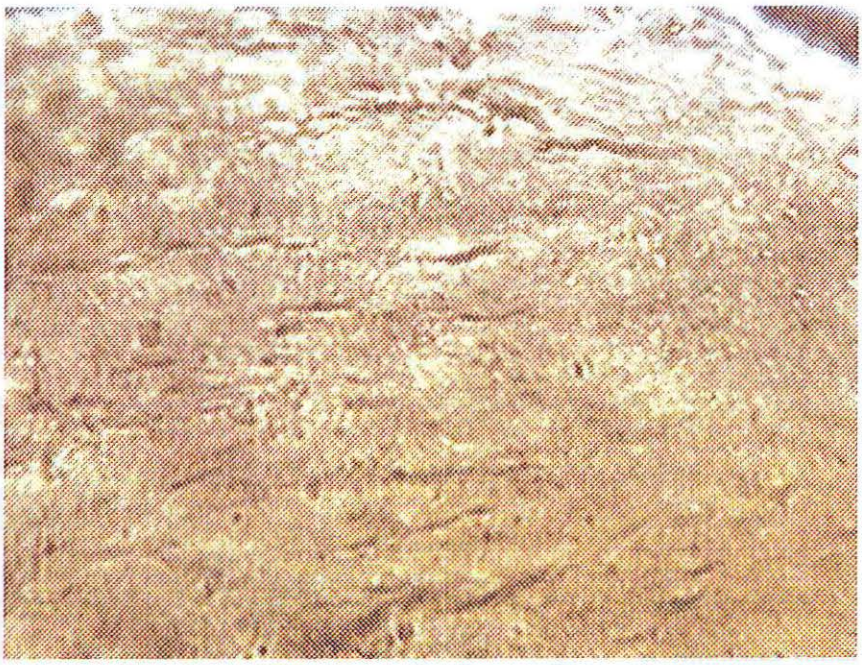
Verzamelnr.: OV VM-23

Image file: j:\dier14.tif

Beschrijving:

Microscopsche identificatie (400*)
Paraffineoliepreparaat.
Bij beenvissen (Teleostei), zoals de haring, zijn de lacunen in de graten spleetvormig. De uitlopers (canaliculi) blijven in een paraffineoliepreparaat met lucht gevuld en geven de lacunen een spinnewebvormig uiterlijk.

Produktnaam: Vismeel, graat haring



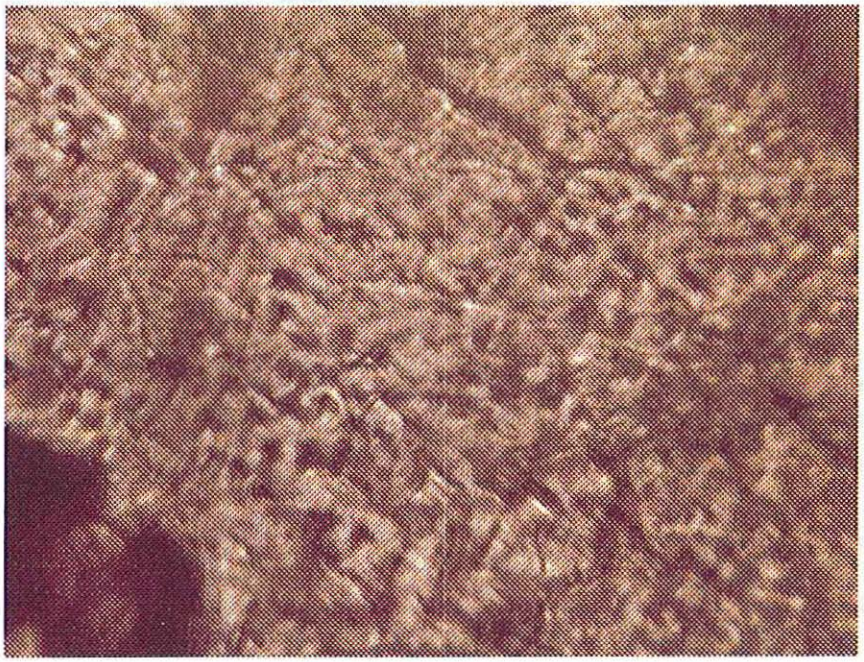
Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier15.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (400*)
Paraffineoliepreparaat.
Bij kraakbeenvissen (Elasmobranchii), zoals de haai en de rog, wordt het kraakbeen onderbroken door kleine ronde lacunen zonder uitlopers. In behandeld materiaal lijken deze lacunen samengedrukt.

Produktnaam: Vismeel, graat haai



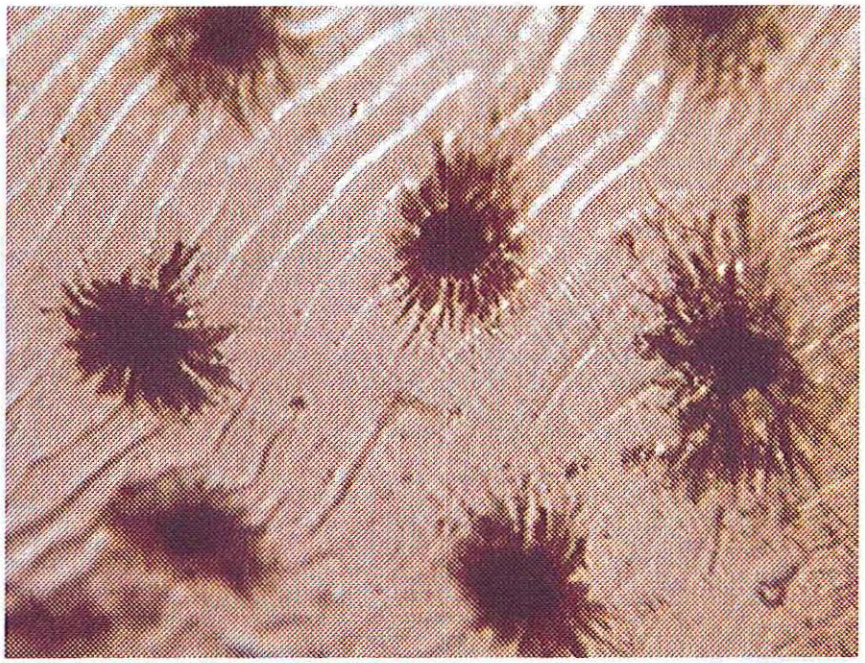
Verzamelnr.: OV H-6

Image file: j:\dier16.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (160*)
Chloralhydraatpreparaat.
De schubben van beenvissen (Teleostei), zoals de haring, bestaan uit transparante plaatjes met een vezelige basale laag en een vaak gemineraliseerde bovenlaag. Deze laatste vertoont een struktruur van ringen en groeven, die karakteristiek is voor families, genera en in sommige gevallen voor species. In de schubben bevinden zich melanoforen met een bruinzwart pigment (melanine).

Produktnaam: Vimeel, schub haring



Verzamelnr.: OV SC-2

Image file: j:\dier17.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (100*)
Chloralhydraatpreparaat.
De placoidschubben van kraakbeenvissen (Elasmobranchii) hebben een puntig uiteinde op de schub, het huidtandje.

Produktnaam: Vismeel, schub haai

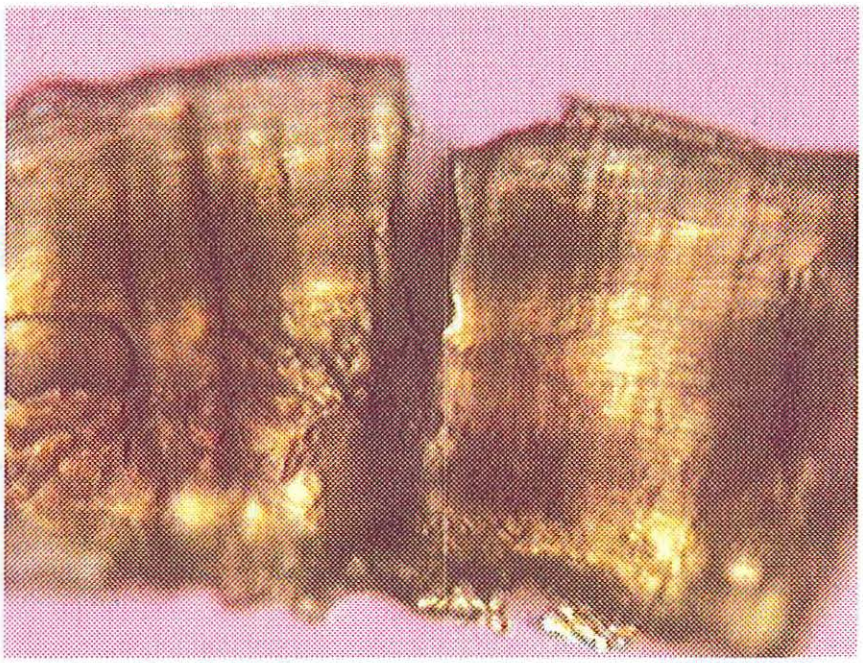
Verzamelnr.: OV H-6

Image file: j:\dier18.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, gehoorsteentje

Microscopische identificatie (160*)
Waterpreparaat, gepolariseerd licht + Rood I.
Otolieten (gehoorsteentjes) zijn kleine parelwitte fragmenten, die iin het sediment zijn te vinden. Ze zijn microscopisch te herkennen aan de gelaagde kristallijne struktuur met groeiringen. Ze bestaan uit kristalnaalden, die met gepolariseerd licht zeer duidelijk zijn waar te nemen. Ze bestaan voor een groot gedeelte uit koolzure kalk. Met verdund zoutzuur (10%) ontstaan koolzuurgasbelletjes in het preparaat.



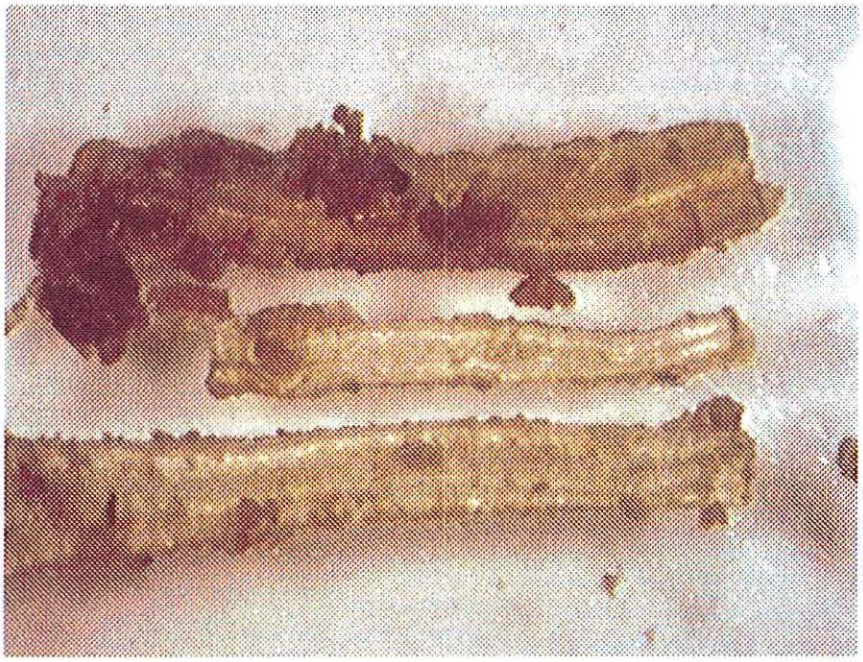
Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier19.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Pluimveeslachtafvalmeel

Stereomicroscopische identificatie (8*)
In pluimveeslachtafvalmeel zijn de gemalen veerbestanddelen onveranderd aanwezig. Het is echter mogelijk dat door de bewerking van het produkt denaturering van het keratine is opgetreden. Sommige veerpartikels lijken op haren andere op plastic buisjes.



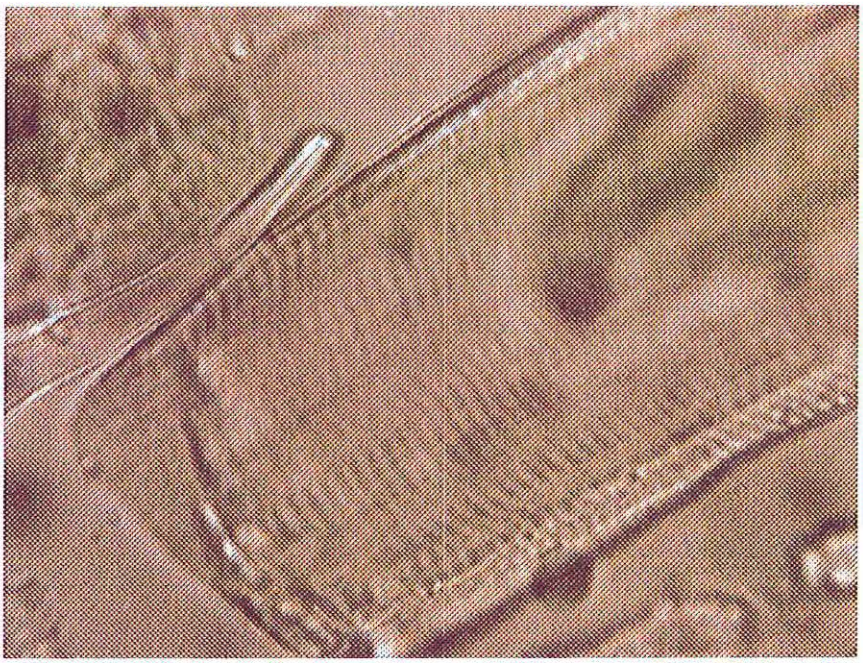
Verzamelnr.: NV P-67

Image file: j:\dier20.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Pluimveeslachtafvallen

Microscopische identificatie (400*)
Chloralhydraatpreparaat.
De microscopische struktuur van spierweefsel van pluimvee komt overeen met die van zoogdieren. De kleurloze, semitransparante vezels zijn 20-50 micrometer breed. Ze komen los of in bundels voor. De dwarsstreping is niet altijd even duidelijk waar te nemen.



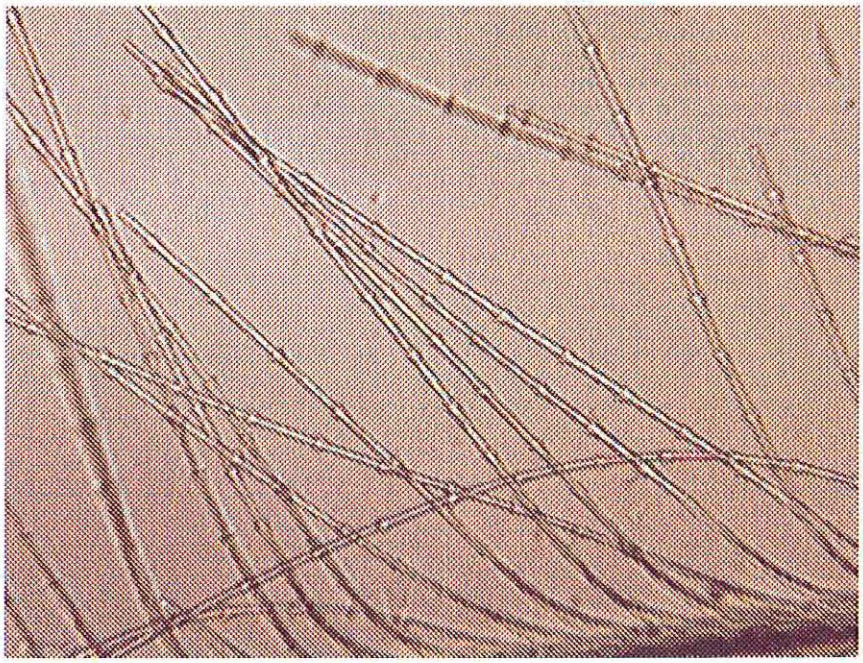
Verzamelnr.: NV P-67

Image file: j:\dier21.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Pluimveeslachtafvalmeel

Microscopische identificatie (100*)
Paraffineoliepreparaat.
Donsveren bestaan uit gladde buisjes (donsstralen) van circa 5 micrometer dik. Ze zijn opgebouwd uit segementen van 30-60 micrometer lengte met bamboeachtige knopen.



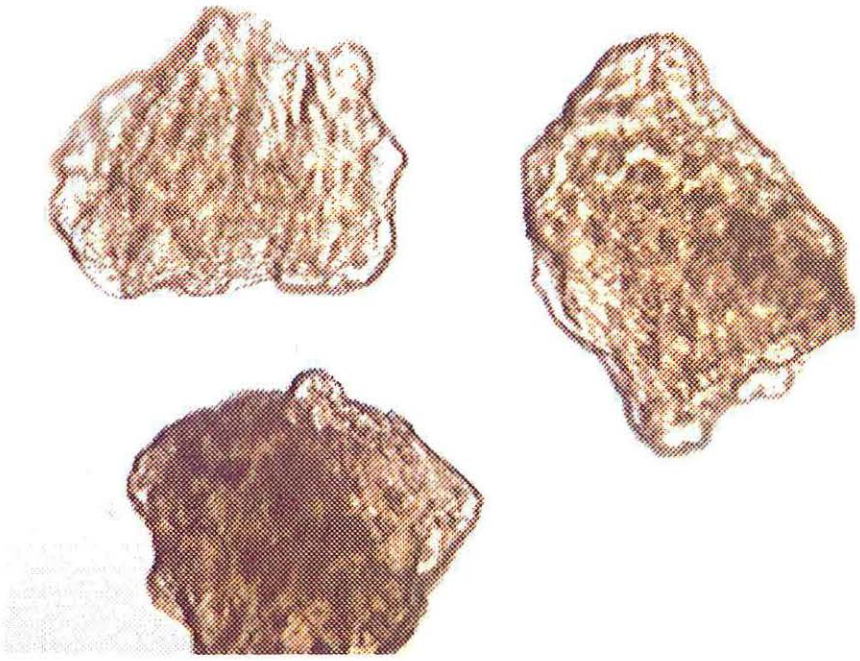
Verzamelnr.: OV DP-11

Image file: j:\dier22.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (160*)
Paraffineoliepreparaat.
Pluimveebotjes zijn matte, semitransparante, grijze deeltjes met ronde en langwerpige lacunen. Er zijn praktisch geen verschillen met de lacunen in zoogdierbot.

Produktnaam: Pluimveeslachtafvalmeel



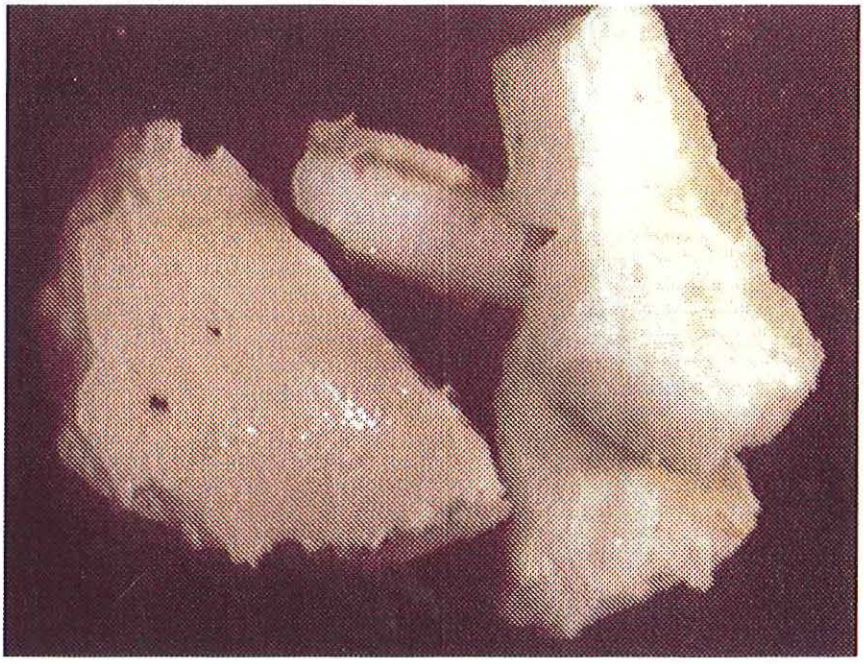
Verzamelnr.: NV P-67

Image file: j:\dier23.tif

Beschrijving:

Stereomicroscopische identificatie (20*)
In pluimveeslachtafvalmeel kunnen gemalen eierschalen voorkomen. Deze zijn gemakkelijk te identificeren aan de matte witte kleur en de licht convexe vorm van de deeltjes, de brosse zachte struktuur en de putjes in het rimpelig oppervlak.

Produktnaam: Pluimveeslachtafvalmeel



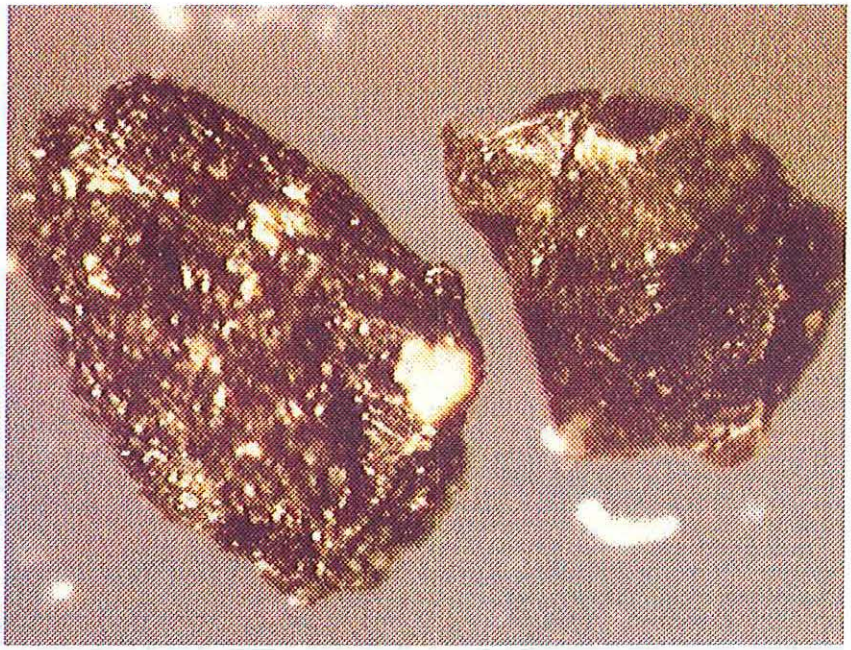
Verzamelnr.: OV EP-5

Image file: j:\dier24.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Diermeel

Stereomicroscopische identificatie (50*)
Bloeddeeltjes komen alleen in diermeel voor en niet in vismeel. De deeltjes zijn onregelmatig van vorm, donkerbruin tot gitzwart, glanzend en transparant. Vaak hebben ze scherpe breukranden. Aan de deeltjes kleven andere weefsels uit het diermeel.



Verzamelnr.: OV DM-4

Image file: j:\dier11.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, haringmeel

Stereomicroscopische identificatie (12*)
Zowel vismeel als diermeel bestaan voornamelijk uit gedroogde spierweefseldeeltjes. Vismeel onderscheidt zich van diermeel door de aanwezigheid van graten en schubben en soms door de aanwezigheid van gehoorsteentjes en kuit en verder verontreinigingen zoals schelpgruis, zeewier, garnaal- en krabfragmenten.

Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier12.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, haringmeel

Microscopische identificatie (100*)
Joodkaliumjodidepreparaat.
Het spierweefsel bestaat uit kleurloze transparante vezels met een doorsnede van 10 tot 120 micrometer en met een fijne dwarsstreping, die niet altijd zichtbaar is. In een joodkaliumjodidepreparaat kleuren de spiervezels geel (eiwitkleuring).

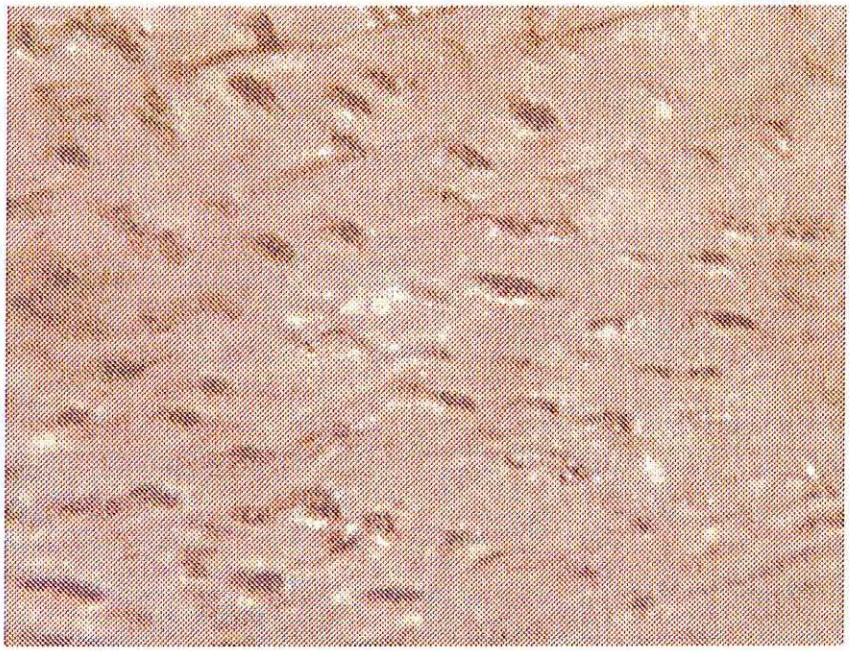
Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier13.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Vismeel, graat

Microscopische identificatie (400*)
Paraffineoliepreparaat.
De lacunen in de graten van beenvisser zijn langwerpig. Ze hebben een gering aantal en voor een gedeelte sterk vertakte uitlopers. Van boven gezien lijken de lacunen op een spinneweb, van op zij meer draadvormig. De uitlopers zijn meestal moeilijk waar te nemen.



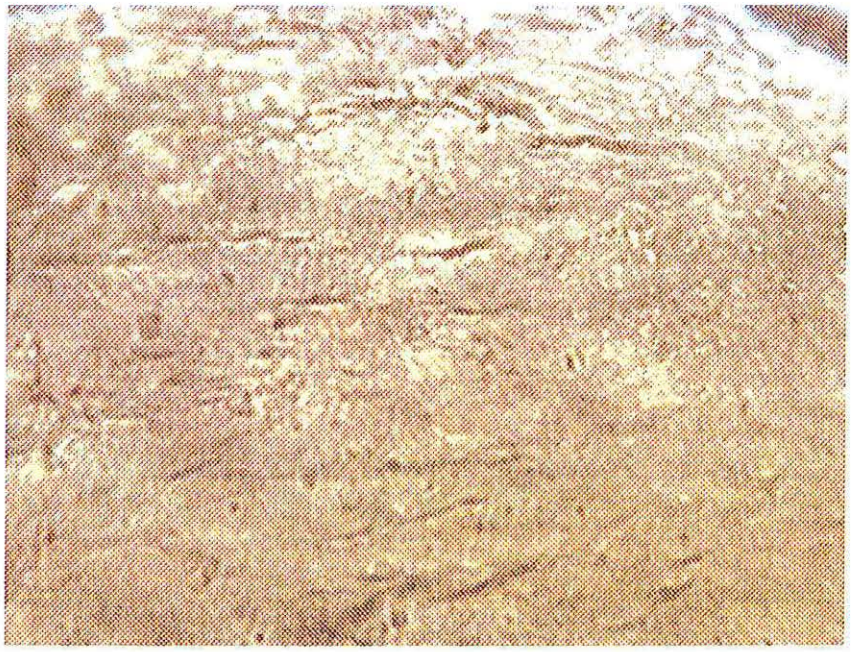
Verzamelnr.: OV VM-23

Image file: j:\dier14.tif

Beschrijving:

Microscopsche identificatie (400*)
Paraffineoliepreparaat.
Bij beenvissen (Teleostei), zoals de haring, zijn de lacunen in de graten spleetvormig. De uitlopers (canaliculi) blijven in een paraffineoliepreparaat met lucht gevuld en geven de lacunen een spinnewebvormig uiterlijk.

Produktnaam: Vismeel, graat haring



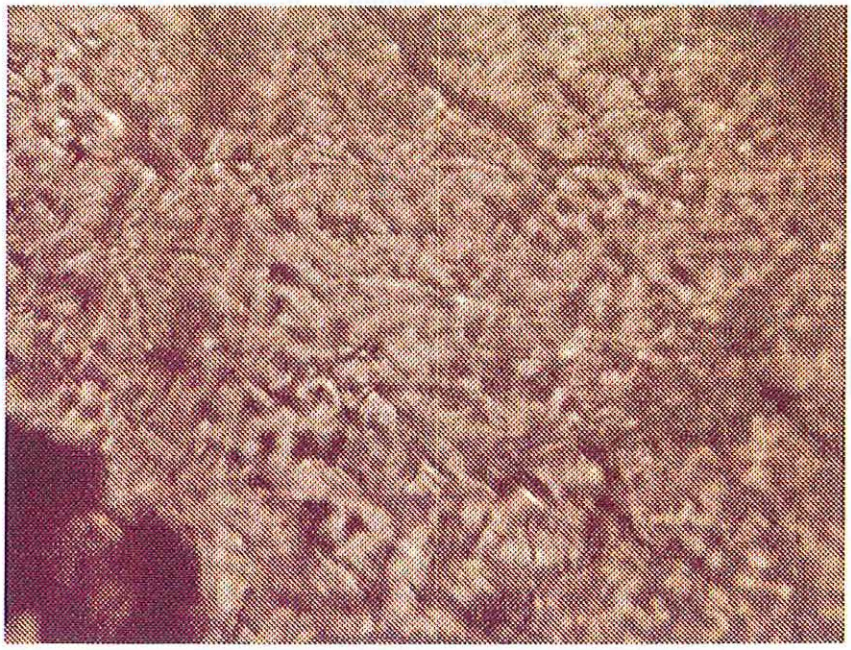
Verzamelnr.: NV V-2

Image file: j:\dier15.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (400*)
Paraffineoliepreparaat.
Bij kraakbeenvissen (Elasmobranchii), zoals de haai en de rog, wordt het kraakbeen onderbroken door kleine ronde lacunen zonder uitlopers. In behandeld materiaal lijken deze lacunen samengedrukt.

Produktnaam: Vismeel, graat haai



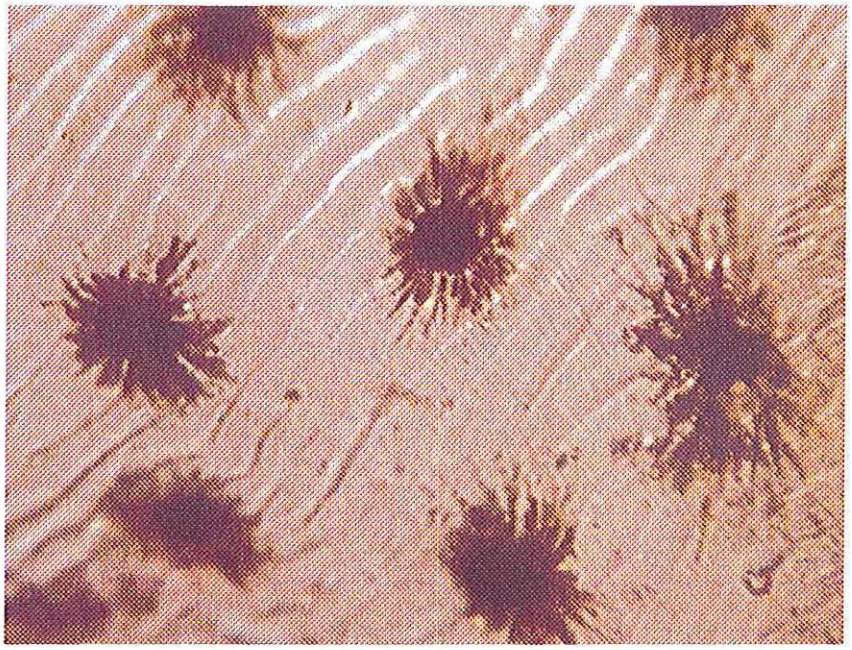
Verzamelnr.: OV H-6

Image file: j:\dier16.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (160*)
Chloralhydraatpreparaat.
De schubben van beenvissen (Teleostei), zoals de haring, bestaan uit transparante plaatjes met een vezelige basale laag en een vaak gemineraliseerde bovenlaag. Deze laatste vertoont een struktruur van ringen en groeven, die karakteristiek is voor families, genera en in sommige gevallen voor species. In de schubben bevinden zich melanoforen met een bruinzwart pigment (melanine).

Produktnaam: Vimeel, schub haring



Verzamelnr.: OV SC-2

Image file: j:\dier17.tif

Beschrijving:

Microscopische identificatie (100*)
Chloralhydraatpreparaat.
De placoidschubben van kraakbeenvissen (Elasmobranchii) hebben een puntig uiteinde op de schub, het huidtandje.

Produktnaam: Vismeel, schub haai

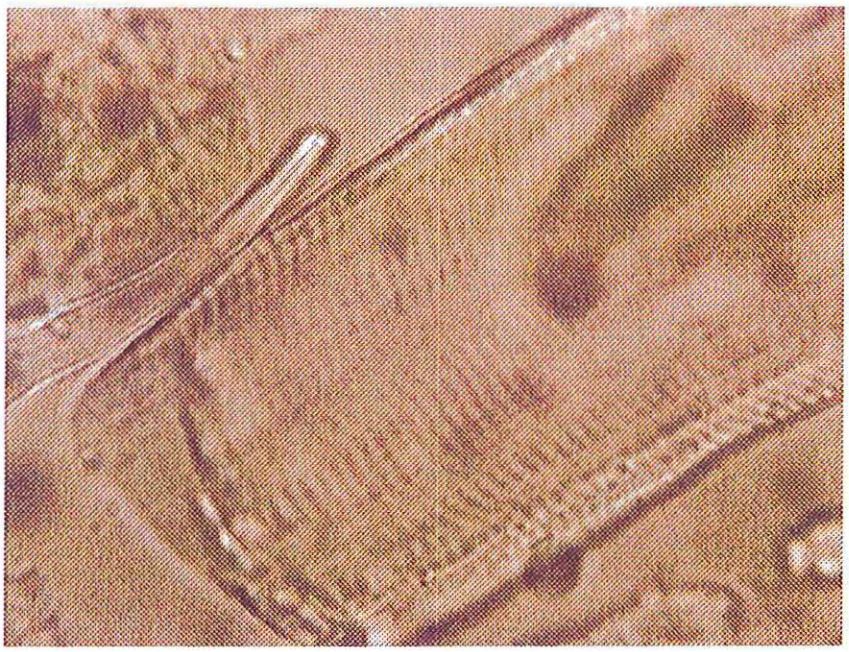
Verzamelnr.: OV H-6

Image file: j:\dier18.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Pluimveeslachtafvallen

Microscopische identificatie (400*)
Chloralhydraatpreparaat.
De microscopische struktuur van spierweefsel van pluimvee komt overeen met die van zoogdieren. De kleurloze, semitransparante vezels zijn 20-50 micrometer breed. Ze komen los of in bundels voor. De dwarsstreping is niet altijd even duidelijk waar te nemen.



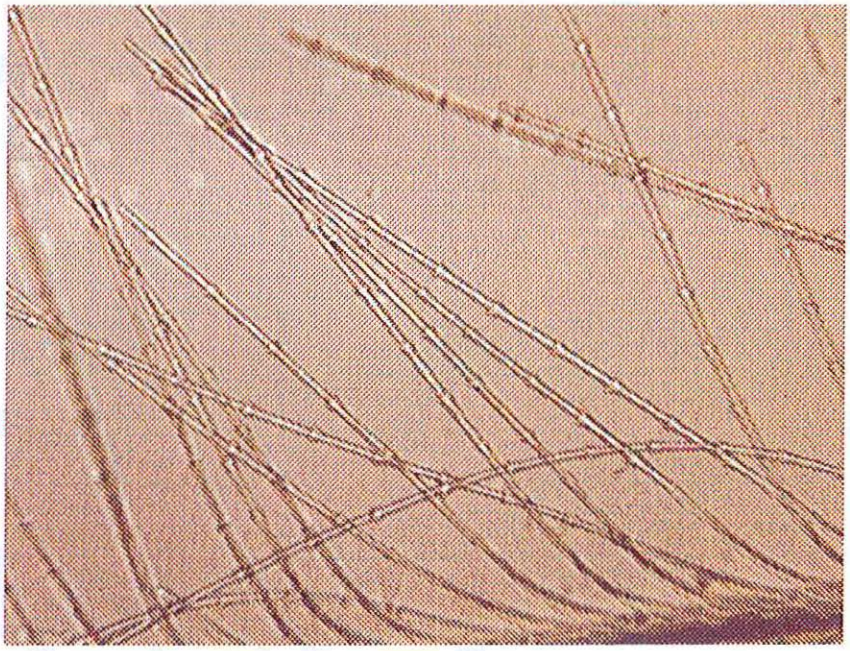
Verzamelnr.: NV P-67

Image file: j:\dier21.tif

Beschrijving:

Produktnaam: Pluimveeslachtafvalmeel

Microscopische identificatie (100*)
Paraffineoliepreparaat.
Donsveren bestaan uit gladde buisjes (donsstralen) van circa 5 micrometer dik. Ze zijn opgebouwd uit segementen van 30-60 micrometer lengte met bamboeachtige knopen.



Verzamelnr.: OV DP-11

Image file: j:\dier22.tif