

VERSLAG 83.93

Projekt: Ontwikkeling methoden voor het bepalen van botbestanddelen in vlees en vleesprodukten.

Onderwerp: Literatuuroverzicht separatorvlees (produktie, samenstelling en analysemethoden)

Doel:

Inventarisatie problematiek rondom de bepaling van het gehalte aan separatorvlees in vleesprodukten.

Samenvatting:

In dit literatuuronderzoek wordt ingegaan op de wettelijke eisen, de produktie en de samenstelling van separatorvlees. Verder wordt uitgebreid aandacht besteed aan de diverse analysemethoden die ontwikkeld zijn om het gebruik van separatorvlees in vleesprodukten vast te stellen.

Conclusie:

Bij de vaststelling van de verwerking van separatorvlees in vleesprodukten door middel van de bepaling van het botgehalte blijken chemische methoden i.c. de bepaling van calcium- of asgehalte niet in alle gevallen te voldoen. Ook aan de diverse sedimenteermethoden - evenals de KOH-methode - kleven bepaalde bezwaren. Het voordeel van beide laatste methoden is echter dat men hierbij over de in het produkt voorkomende botdeeltjes kan beschikken en deze aan verder onderzoek - dat wil zeggen identificatie - kan onderwerpen. Bovendien is het op deze wijze bepaalde gehalte de hoeveelheid botbestanddelen die in het produkt minimaal aanwezig is. Op basis van onze ervaring met het isoleren van mineralen en botbestanddelen in mengvoerders door middel van sedimenteren in tetrachloorkoolstof lijkt het zinvol om een eigen aangepaste methode voor het isoleren van botbestanddelen in separatorvlees en vleesprodukten te ontwikkelen.

Verantwoordelijk: drs W.J.H.J. de Jong

Samenstellers: J.S. Ossenkoppele, J.J.M. Vliege

Projektleider: drs W.J.H.J. de Jong

1/8 3/4

1. Inleiding

Men verwacht dat het gebruik van separatorvlees of mechanisch ontbeend vlees in Nederland in de toekomst sterk zal toenemen. Op het ogenblik wordt deze grondstof bij de bereiding van vleesprodukten echter nog maar beperkt gebruikt o.a. in rookworst, luncheonmeat en in soepballletjes e.d. en dan nog vaak in percentages kleiner dan 25% (37). De produktie van varkensseparatorvlees werd in 1979 op 5 miljoen kg geschat (11). Een kenmerk van separatorvlees is de aanwezigheid van botsplinters en beenmerg (10,35). Deze botsplinters zijn de oorzaak van een verbod van de verwerking van separatorvlees in babyvoeding in de V.S. Een verhoogd fluorgehalte afkomstig van het bot zou schadelijk zijn (35).

Het is belangrijk dat er normen worden gesteld voor wat betreft het botgehalte in separatorvlees. Het is niet alleen een kwestie van eerlijkheid in de handel maar voor de consument zijn de gezondheidsaspecten (35) belangrijk en voor de producenten van vleeswaren is de exportpositie in het geding (28).

In het nieuwe Vlees- en Vleeswarenbesluit (39) is bepaald, dat separatorvlees en/of pluimveevlees bij de bereiding van vleeswaren of samengestelde vleesprodukten mag worden gebruikt tot een hoeveelheid van 20% van de massa. Het calciumgehalte, berekend op de totale hoeveelheid van het produkt mag niet hoger zijn dan 0,05%.

In de Landbouwkwaliteitsverordening Rookworst (25) wordt het gebruik van separatorvlees in dit produkt verboden. Als het calciumgehalte meer dan 0,030% bedraagt, wordt aangenomen dat er separatorvlees is toegevoegd.

Gezien de kwaliteitseisen, die gesteld kunnen worden aan separatorvlees en de verwerking daarvan in vleeswaren en in samengestelde vleesprodukten lijkt het zinvol om eerst een literatuuronderzoek in te stellen naar de problematiek van de bereiding, verwerking, eigenschappen en samenstelling van separatorvlees.

2. De bereiding en samenstelling van separatorvlees

Wat is separatorvlees?

Onder separatorvlees wordt volgens het Vlees- en Vleeswarenbesluit (39) verstaan de verkleinde substantie bestaande uit spierweefsel, bindweefsel, merg en vet, hetwelk machinaal is gescheiden van beenderen van slachtdieren of pluimvee.

Bij het indelen, snijden en ontbenen van o.a. slachtkuikens, kippen, kalkoenen, varkens en runderen blijft er een "rest" over, die veelal niet als zodanig in de handel kan worden gebracht. Deze "rest" b.v. nekken, borstkassen, vleugelpunten van pluimvee (18,19), wervels en ribben van varkens en runderen (4) bevat een hoog percentage vlees, vet en vel.

Reeds geruime tijd zijn er machines in de handel, die gebruikt worden om een belangrijke hoeveelheid van het eetbare deel van de genoemde resten terug te winnen. Het produkt dat wordt verkregen, wordt separatorvlees (meat) genoemd. De samenstelling van dit produkt is o.a. afhankelijk van het uitgangsmateriaal en het type machine waarmee het bereid is (18,19).

Het principe van de produktie van separatorvlees is als volgt: de "resten" worden in een vleeswolf verkleind en vervolgens in de eigenlijke separator gebracht. Het scheiden van het eetbare separatorvlees en de niet eetbare botfractie is in beginsel niets anders dan zeven door een zeef met zeer kleine gaatjes. Dit zeven moet onder zeer hoge druk gebeuren, omdat het produkt niet vloeibaar is. Afhankelijk van het type separator wordt het uitgangsmateriaal vooraf verkleind, waarna het produkt door een cilindervormige zeef van binnen naar buiten wordt geperst onder zeer hoge druk.

Vlees, vet en vel verlaten de ruimte door een systeem van fijne kanalen. De botfractie wordt hier gelost en verlaat de machine via een eigen afvoergang. De capaciteit is afhankelijk van de soort machine. Deze bedraagt b.v. 3 tot 5 ton uitgangsprодукt per uur. Het rendement is slechts in beperkte mate regelbaar en ligt volgens de fabrikanten op 40 tot 60% (18,19).

Enkele aspecten die van belang zijn bij de bereiding van separatorvlees:

- Botten die afkomstig zijn van koppen, pijpbeenderen, ledematen en varkensstaarten zouden om gezondheidsredenen niet voor de bereiding van separatorvlees gebruikt moeten worden. Eveneens zouden van de kippenkarkassen de klieren, die aan de stuit gelegen zijn, vooraf verwijderd moeten worden (41).
- Het uitgangsmateriaal moet optimaal van kwaliteit zijn, niet te lang in de diepvries bewaard zijn en het ontdooien (voor de eigenlijke separatie) moet snel gebeuren. Het beste separatorvlees wordt verkregen van vers materiaal (18,19).

- Er moet snel en hygienisch gewerkt worden. De separatie veroorzaakt een verhoging van de temperatuur van het produkt. Om te voorkomen dat met de temperatuurverhoging het kiemgetal zal toenemen, moeten het separatieproces en de daarop volgende koeling in zo kort mogelijke tijd verlopen (18,19).
- Er ontstaan celbeschadigingen door de mechanische belasting tijdens het ontbenen. Hierdoor wordt het vlees gevoeliger voor oxydatie, bederf, e.d. (37).
- Het rendement van de separatormachine moet zodanig worden ingesteld, dat het calciumgehalte (i.c. het botgehalte) niet boven de norm van 0,25% komt (18,19) om te voorkomen dat bij de verwerking van 20% separatorvlees in vleeswaren meer dan 0,05% calcium wordt gevonden (39).

De toepassing van separatorvlees

Pluimveeseparatorvlees wordt in Nederland als één van de grondstoffen gebruikt voor de bereiding van bepaalde worstsoorten zoals rookworst (28) en snijworst (11). In rookworst van z.g. extra kwaliteit mag echter geen separatorvlees verwerkt worden (25).

Het separatorvlees wordt ook wel gezouten en als halfprodukt naar het buitenland geëxporteerd (11). In de V.S. wordt separatorvlees meer toegepast in vleesprodukten (28,35). Men maakt daar produkten zoals b.v. frankfurterworstjes die voor 80 tot 100% bestaan uit separatorvlees. Andere produkten die ook veel kipseparatorvlees bevatten zijn o.a. soepballetjes en boterhamworst (18,19,37).

In West Duitsland mag separatorvlees alleen verwerkt worden in worsten, die een rook- of kookproces hebben ondergaan, in "Brühwürsten" en "Kochwürsten" (4,35,41).

De samenstelling van separatorvlees

De chemische samenstelling van separatorvlees is afhankelijk van de aard van het uitgangsmateriaal, van de gebruikte separator en de afstelling van de separatormachine (12). Bij een toenemend rendement van de separator neemt het botgehalte (i.c. het calciumgehalte) in het separatorvlees toe (18,19,35). In West Duitsland voegt men wel voor de verkleining en voor het separeren ijs en zout toe. Hierdoor wordt het te bewerken materiaal "week" gemaakt, waardoor men de druk van de separator kan verlagen.

Hierdoor wordt een lager botgehalte in het separatorvlees verkregen. Bovendien zal de verhoging van de temperatuur, die bij het persen ontstaat, daardoor afnemen (35).

Een globale chemische samenstelling van kippe- en varkensseparatorvlees en een globale weefselsamenstelling van kippeseparatorvlees staan in de volgende tabel vermeld (12,13,18,19,37). Wat betreft de weefselsamenstelling van varkensseparatorvlees en runderseparatorvlees zijn geen gegevens bekend.

Tabel

SAMENSTELLING KIPPENPARATORVLEES	
Chemische samenstelling	
30% droge stof 14,5% vet 13% eiwit 0,4% calcium 1,4% collageen	
Weefselsamenstelling	
45% spierweefsel 24% vetweefsel 9% bindweefsel 8% nekklier en jeugdlier 7% beenmerg 6% nierweefsel 1% botdeeltjes	
SAMENSTELLING VARKENPARATORVLEES	
Chemische samenstelling	
40% droge stof 24% vet 15% eiwit 0,12% calcium	

Het verschil in chemische samenstelling van de met hand verwijderd restvlees en machinaal gewonnen separatorvlees, vooral wat vocht-, vet-, eiwitgehalte en pH-waarde betreft, wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van variërende hoeveelheden merg in het separatorvlees.

Bij het persen worden de beenderen immers aan een zeer hoge druk (b.v. 280 Bar) onderworpen, zodat er een aantal van breken (38). Ten gevolge hiervan komt het beenmerg in het separatorvlees. Beenmerg kan wel 16 tot 30% van het separatorvlees uitmaken (12). Bovendien neemt het calciumgehalte en asgehalte toe door de aanwezigheid van botresten, kapsels en pezen.

Het botgehalte in varkens- en runderseparatorvlees is meestal hoger dan in kippenseparatorvlees (36). Bij pluimvee bevinden zich meestel meer vleesresten aan de botten dan bij runderen en varkens (4). Zo vindt Arneth (4) in zijn vergelijkend onderzoek volgens de sedimenteermethode van Sinell (32) een gemiddeld botgehalte bij pluimvee van $\pm 1\%$ en bij varkens en runderen van $\pm 10\%$ (berekend op de vetvrije droge stof).

In de praktijk wordt nog al eens gesproken over "harde" en "zachte" separatoren. Het verschil berust slechts op apparatuur (separatoren) die toegepast worden. Met "harde" separatoren wordt vlees van botbestanddelen verwijderd en bij "zachte" separatoren wordt het vlees van pezen en zenen ontdaan (35).

Een typisch kenmerk van separatorvlees is een verhoogd gehalte aan enkele toxische elementen, zoals fluor en lood. Het gehalte aan fluor en lood is in separatorvlees hoger dan in manueel ontbeend restvlees. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat bij het manueel verwijderen van het restvlees vnl. het buitenste deel van het bot wordt mee verwerkt, terwijl bij separatorvlees het gehele bot en merg wordt verkleind (35).

De meningen over de kwaliteit van een produkt, waarin botbestanddelen aanwezig zijn, zijn verdeeld. Bot zou voedingsfysiologisch gezien een uitstekende bron zijn om aan de dagelijkse calciumbehoefte te voldoen. Men kan dus zeggen dat een verhoogd botgehalte in vleesprodukten een bijdrage kan leveren aan de gezondheid van de mens (12). Machinaal ontbeend vlees zou echter daarnaast een verhoogd gehalte aan toxische metalen bevatten (35).

3. De bepaling van het botgehalte in separatorvlees en in vleesprodukten

De aanwezigheid van botbestanddelen in vleesprodukten, zou een goede parameter zijn voor het vaststellen van separatorvlees.

Om het botgehalte in separatorvlees en in vleesprodukten te bepalen zijn er verschillende methoden ontwikkeld. Deze methoden kan men onderverdelen in direkte en indirecte methoden. Bij de direkte methoden wordt rechtstreeks het botgehalte bepaald, terwijl bij de indirecte methoden uit het as- of calciumgehalte met behulp van factoren het botgehalte wordt berekend (6).

Verschillende direkte methoden zijn:

3.1 De KOH-methode (9,28,31,34), o.a. volgens Gerats en Terbijhe (17).

Na destructie van de vet- en eiwitbestanddelen van een bepaalde hoeveelheid separatorvlees in alcoholische kaliloog, worden overblijvende botdeeltjes gefiltreerd, gedroogd en gewogen en wordt via een omrekeningsfaktor het botpercentage berekend. Een voordeel van deze methode is dat de botdeeltjes microscopisch geïdentificeerd kunnen worden en de grootte ervan gemeten kan worden.

Een nadeel is dat door de loogbehandeling er veranderingen optreden in de botstructuur waardoor het werken met een faktor (4,44) noodzakelijk is om het oorspronkelijk botgehalte vast te stellen. Deze faktor is echter ook weer afhankelijk van bot- en diersoort, zodat deze faktor variabel kan zijn. Bij het onderzoek van vleesprodukten zoals worsten, luncheonmeat e.d. zal de juiste faktor moeilijk te achterhalen zijn. Bovendien is deze methode alleen geschikt voor zetmeelvrije produkten (6).

3.2 Sedimenteermethoden met verschillende vloeistoffen

3.2.1 Sedimenteermethoden met verzadigde magnesiumsulfaatoplossingen (7,24,30)

3.2.1.a Sedimenteermethode volgens Kressmann (24)

Het vleesprodukt wordt eerst gekookt met water. Hierna wordt het monster overgebracht in een verzadigde magnesiumsulfaatoplossing. Het sediment wordt gedroogd en gewogen en microscopisch geïdentificeerd. Een verzadigde magnesiumsulfaatoplossing wordt gebruikt vanwege het gunstige soortelijk gewicht (nl. 1,27).

Het soortelijk gewicht van de gedroogde eiwitsubstantie (vleesdelen) bedraagt 1,1 tot 1,2 en van gedroogde botdelen 1,7 tot 2,1. Deze methode is volgens Kressmann (24) alleen geschikt voor botdeeltjes, die groter zijn dan 0,5 mm. Een nadeel van de methode is echter dat er zich luchtballen bevinden in en aan de brokjes vlees en bot, waardoor het soortelijk gewicht soms aanzienlijk kan worden gewijzigd (6).

3.2.1.b Sedimenteermethode volgens Schaal en Anhalt (30)

Het uitgangsmateriaal wordt met een vleeswolf verkleind en het wordt in een verzadigde magnesiumsulfaatoplossing gebracht. De gesedimenteerde bestanddelen worden gedroogd en gewogen en kunnen microscopisch worden geïdentificeerd (15,30,31).

3.2.2 Sedimenteermethode volgens Diller (14)

Het vleesprodukt wordt na ontvetting met ether gekookt met 10% natronloog. Na afkoelen wordt het materiaal overgebracht in chloroform (s.g. 1,47).

Het sediment wordt gedroogd en gewogen. Het is aan te bevelen om van de bovendrijvende stof nogmaals een sediment in chloroform te maken.

3.2.3 Sedimenteermethode volgens Sinell (32)

Deze methode is door Sinell toegepast om het botgehalte in met name leverworst vast te stellen.

De leverworst wordt ontvet en gedroogd. Hierna wordt het materiaal met tetrachloorkoolstof overgoten en 15 minuten met 3000 toeren per minuut gecentrifugeerd. De bovenstaande heldere vloeistof wordt afgegoten en het bezinksel wordt gedroogd en gewogen.

3.2.4 Sedimenteermethode volgens Hill en Hites (21)

Het vleesprodukt wordt gekookt in een hogedrukpan met water. Na het koken wordt de bovenste laag (vet) gedecanteerd. Hierna wordt een bufferoplossing met papaine toegevoegd. Vervolgens wordt in een stoof bij 35°C 5 uur geïncubeerd. Ieder half uur moet de oplossing geschud worden. Daarna wordt de oplossing overgebracht in een mengsel van tetra en aceton (2,5/1) met een soortelijk gewicht van 1,36. Na het sedimenteren wordt het gesedimenteerde materiaal gedroogd en gewogen (16).

3.2.5 Sedimenteermethode volgens Haken (20)

Het vleesprodukt wordt direkt in een handwarme 20% keukenzoutoplossing (s.g. 1,15) gebracht en goed gemengd. De gesedimenteerde botbestanddelen kunnen verzameld, gedroogd en gewogen worden.

Voor- en nadelen van de sedimenteermethode:

De voordelen zijn: - zuiver bot wordt bepaald;

- er is weinig apparatuur noodzakelijk;
- het gesedimenteerde bot kan microscopisch geïdentificeerd worden;
- de grootte van de botsplinters kan gemeten worden.

De nadelen zijn: - een onbekende hoeveelheid kleine botdeeltjes kan blijven drijven in de flotatielaag;

- er zouden nog vlees- en bindweefselresten aan de gesedimenteerde botsplinters kunnen zitten;
- er zou volgens van Gend (16) een faktor 2 gehanteerd moeten worden om het oorspronkelijk botgehalte uit het sediment te berekenen, omdat bot tot 50% vocht zou bevatten.

3.3 De histologische methode (8,26,29)

Hierbij worden coupes van het te onderzoeken materiaal gemaakt en met een specifieke botkleuring kan het bot kwalitatief worden aangetoond. Specifieke kleuringen zijn b.v. de zilvernitraatkleuring volgens Kossa, de alizarinerood-S of de Callejakleuring (8,26,29). Met behulp van histometrische technieken kan het botgehalte ook kwantitatief bepaald worden (23).

Voor- en nadelen van de histologische methode:

Een voordeel van de histologische methode is dat de botdeeltjes geïdentificeerd en gemeten kunnen worden. Tevens kunnen ook andere weefsels zoals spierweefsel, klierweefsel, bindweefsel e.d. geïdentificeerd worden.

Een nadeel is de bewerkelijkheid van de histologische methode.

3.4 Een gecombineerde sedimenteermethode en histologische methode volgens Sommer en Mülder (33)

Hierbij worden - om het botgehalte in een worstprodukt, waarin separatorvlees is verwerkt, te bepalen - de eiwitten met een geconcentreerde guanidine-ureumoplossing en met waterstofperoxyde opgelost.

De kleine botdeeltjes zouden niet blijven drijven. De oplossing wordt hierna gecentrifugeerd. De bovenstaande vloeistof wordt met behulp van een waterstraalpompe afgezogen. Het neerslag wordt tweemaal met heet water en twee maal met aceton gewassen (decanteren). Daarna wordt dit overgebracht in tetrachloorkoolstof. Het bezinksel wordt met behulp van speciale prepareertechnieken microscopisch bekeken.

3.5 De röntgenologische methode (40)

Deze methode berust op een semikwantitatieve bepaling van botdeeltjes. Met behulp van röntgenfoto's kunnen botdeeltjes in het produkt zichtbaar gemaakt worden. Er is hiervoor echter kostbare apparatuur nodig. Daarentegen kost een onderzoek op deze wijze slechts weinig voorbereidingstijd.

Verschillende indirecte methoden voor de bepaling van het botgehalte zijn:

3.6 De calciumbepaling (5,7,28,34)

Dit is volgens enkele auteurs de eenvoudigste en meest nauwkeurige bepaling van het botgehalte (4,6). In vleeswaren en in samengestelde vleesprodukten, waarin verschillende hulpstoffen zijn verwerkt, die ook calcium bevatten, is echter de bepaling van het calciumgehalte niet meer toepasbaar voor de berekening van het botgehalte. Hulpstoffen, die calcium bevatten, zijn o.a. melkprodukten, zouten en kruiden. Bij vleeswaren en samengestelde vleesprodukten, waarin hulpstoffen verwerkt zijn, wordt een gemiddeld calciumgehalte aangehouden van 350 mg per kg (4). De toevoeging van de hoeveelheid hulpstoffen varieert zodat ook het calciumgehalte zal variëren. Het calciumgehalte van vlees zonder hulpstoffen varieert van 100 tot 250 mg per kg. Als gemiddelde waarde houdt men 150 mg per kg aan (2).

Het calciumgehalte van het bot kan eveneens variëren. Het gehalte is afhankelijk van bot- en diersoort.

Bij runderen en varkens bedraagt het calciumgehalte van het bot 25% (faktor 4) (36); bij kuikens bedraagt het calciumgehalte van het bot 16% (faktor 6,25) (6,33); bij vleugels van pluimvee is het calciumgehalte van het bot 20% (faktor 5) (22); bij kippen en kalkoenen is het calciumgehalte van het bot 22% (faktor 4,55) (6); bij halswervels van haantjes is het calciumgehalte van het bot 9,7% (faktor 10,31) (2).

Uit het chemisch gevonden calciumgehalte kan men in separatorvlees het botgehalte berekenen met de volgende formule (6,33):

$$\% \text{ bot} = \text{faktor} \times (\% \text{ Ca} - 0,015)$$

waarin:

faktor = afhankelijk van dier- en botsoort

% Ca = chemisch vastgesteld calciumgehalte

0,015 = gemiddeld percentage calcium in vlees.

Bij vleeswaren en samengestelde vleesprodukten, waarin hulpstoffen verwerkt zijn, zou men kunnen corrigeren op een gemiddeld calciumgehalte voor deze hulpstoffen te weten met 350 mg per kg (0,035%) (4,5).

3.7 De asbepaling (7,15)

Het asgehalte van bot kan volgens Anhalt e.a. (3) variëren tussen 25% en 43%, afhankelijk van bot- en diersoort (faktor 4 en 2,3). Volgens Linke e.a. (27) en Anhalt en Wenzel (2) kan het asgehalte van bot zelfs 50% bedragen (faktor 2,0). Het asgehalte van vlees is afhankelijk van de verhouding spiervlees:vet- en bindweefsel.

Een hoger vet- en bindweefselpercentage geeft een lager asgehalte, waardoor het asgehalte van separatorvlees beduidend lager kan liggen dan in gewoon vlees (3). Hieruit blijkt dat het asgehalte geen geschikte parameter voor de bepaling van het botgehalte in vleesprodukten is.

Ook zal men hier met verschillende asgehalten - o.a. van de hulpstoffen - rekening moeten houden. Hiervoor gelden dezelfde opmerkingen, die reeds bij de bespreking van de nadelen van de calciumbepaling zijn gemaakt (zie 3.6).

4. Diskussie

Een probleem bij de bepaling van het botgehalte in vleesprodukten is de heterogene verdeling van botbestanddelen. Het is aan te bevelen na grondige menging van het verkleinde onderzoeksmateriaal een zo groot mogelijk aantal deelmonsters te onderzoeken.

Volgens Anhalt (1) zouden ten minste 4 deelmonsters onderzocht moeten worden. Het is zeker niet voldoende om een monster alleen in duplo te onderzoeken, zoals in het algemeen gebruikelijk is bij het chemisch onderzoek (2).

Om het botgehalte in separatorvlees of in produkten waarin separatorvlees verwerkt is te bepalen zijn diverse methoden ontwikkeld. Een direkte methode is de KOH-methode b.v. volgens Gerats en Terbijhe (17). De voordelen van deze methode zijn, dat de botdeeltjes kwantitatief te bepalen zijn en microscopisch geïdentificeerd kunnen worden. Bovendien is de grootte van de botdeeltjes vast te stellen. Een nadeel is dat door de loogbehandeling veranderingen in de botstructuur optreden, die het gebruik van een faktor noodzakelijk maken. Bovendien is de KOH-methode alleen geschikt voor zetmeelvrije produkten.

Als sedimenteermethoden zijn vermeld:

- a. de sedimenteermethode volgens Schaal en Anhalt (30) en Kressmann (24) met een verzadigde magnesiumsulfaatoplossing;
- b. de sedimenteermethode volgens Diller met chloroform (14);
- c. de sedimenteermethode volgens Sinell met tetrachloorkoolstof (32);
- d. de sedimenteermethode volgens Hill en Hites (21) met een mengsel van tetrachloorkoolstof en aceton (2,5/1);
- e. de sedimenteermethode volgens Haken met behulp van een handwarme 20% keukenzoutoplossing (20).

Bij bovenstaande sedimenteermethoden is het belangrijk, dat het produkt zo vloeibaar mogelijk wordt gemaakt, zodat de vleesbestanddelen gemakkelijk van het bot te scheiden zijn zonder dat deze scheidingsvloeistoffen het bot als zodanig beïnvloeden. Het grote voordeel van deze methoden is, dat het bot kwantitatief bepaald kan worden en dat het microscopisch geïdentificeerd kan worden. Bovendien kan men de grootte van de botdeeltjes bepalen.

De methode van Sommer en Mulder (33), waarbij het materiaal wordt voorbehandeld met een guanidine-ureumoplossing en waterstofperoxyde, zou geschikt zijn voor sterk verhitte produkten zoals bepaalde worstsoorten.

De histologische en röntgenologische methoden zijn semikwantitatieve methoden. Het is alleen mogelijk om met gradaties de hoeveelheid botbestanddelen weer te geven in termen van "weinig", "normaal" en "veel" bot. Het zou echter met behulp van beeldanalysesystemen b.v. met een "Videomat" mogelijk zijn om botbestanddelen in een histologisch preparaat te kwantificeren door middel van een histometrische oppervlaktemeting. Het voordeel van dit histometrisch onderzoek is dat ook andere weefselcomponenten in het te onderzoeken produkt geïdentificeerd kunnen worden. Een nadeel is bewerkelijkheid van deze methode. Een verschil tussen de KOH-methode en de sedimenteermethoden enerzijds en de histologische en röntgenologische methoden anderzijds is, dat bij de eerst genoemde methoden het botgehalte in percentages uitgedrukt kan worden, terwijl bij de twee andere methoden alleen semikwantitatief het botgehalte bepaald kan worden met uitzondering van de histometrische bepaling.

Het berekenen van het botgehalte uit het calciumgehalte of asgehalte stuit op moeilijkheden aangezien vaak niet bekend is welk soort separatorvlees gebruikt is, dat wil zeggen van welke dier- of botsoort het separatorvlees afkomstig is. Meestal is ook het calciumgehalte van de gebruikte hulpstoffen niet bekend. De aanwezigheid van met name kruiden kan tot een verhoging van het calciumgehalte leiden. Het asgehalte is evenals het calciumgehalte sterk afhankelijk van bot- en diersoort.

5. Conclusie

Bij de vaststelling van de verwerking van separatorvlees in vleesprodukten door middel van de bepaling van het botgehalte blijken chemische methoden i.c. de bepaling van calcium- of asgehalte niet in alle gevallen te voldoen. Ook aan de diverse sedimenteermethoden evenals de KOH-methode kleven bepaalde bezwaren. Het voordeel van beide laatste methoden is echter dat men hierbij over de in het produkt voorkomende botdeeltjes kan beschikken en deze aan een verder onderzoek - dat wil zeggen identificatie - kan onderwerpen. Bovendien is het op deze wijze bepaalde gehalte de hoeveelheid botbestanddelen die in het produkt minimaal aanwezig is. Bij de bepaling van het botgehalte in vleesprodukten zullen de verschillende bepalingsmethoden, zoals de calciumbepalingsmethode, de sedimenteermethode en de histologisch/histometrische methode in de meeste gevallen diverse resultaten opleveren.

Gezien onze ervaringen met het isoleren van mineralen en botbestanddelen in mengvoeders door middel van sedimenteren in tetrachloorkoolstof lijkt het zinvol om een eigen aangepaste methode voor het isoleren van botbestanddelen in separatorvlees en vleesprodukten te ontwikkelen.

6. Literatuur

1. Anhalt, G. Der direkte und indirekte Nachweis von Knochensubstanz in Fleisch- und Wursterzeugnissen unter Berücksichtigung der maschinellen Entbeinung des Rohstoffes Fleisch. Vet. med. Diss., Hannover, 1974.
2. Anhalt, G. en Wenzel, S. Verfahren zum Nachweis von Knochensubstanz in Gewebegemengen und Bewertung von Knochengehalten in maschinell und manuell gewonnenem Restfleisch. Arch. Lebensmittelhyg. 28, 161-166, 1977.
3. Anhalt, G., Brüning-Oeltjen, A. en Wenzel, S. Knochenanteile in handentbeintem Restfleisch von Schwein und Rind. Arch. Lebensmittelhyg. 28, 202-211, 1977.
4. Arneth, W. Analytische Gesichtspunkte der Trennung von Fleisch und Knochen. Deutsche Lebensmittel-Rundschau 12, 379-389, 1979.
5. Arneth, W. Ein Verfahren zur halbautomatischen Calciumbestimmung in einem Probenhydrolysat. Fleischwirtschaft 57, 100-102, 1977.
6. Bolder, N.M. en Hospers, H. Problematiek rondom de bepalingmethoden van het beengehalte in separatorvlees. Voedingsmiddelentechn. 19, 11-15, 1977.
7. Brüning-Oeltjen, A. Vergleichende Untersuchungen handentbeinten Restfleisches von Schwein und Rind auf Knochengehalte unter Anwendung direkter und indirekter Verfahren. Vet. med. Diss., Hannover, 1977.
8. Burck, H.C. Histologische Technik. G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1973.
9. Bijker, P.G.H., Gerats, G.E. en Fransen, T. Botgehalte in mechanisch ontbeend varkensvlees. Tijdschr. Diergeneesk. deel 103, afl. 11, 583-588, 1978.
10. Bijker, P.G.H., Gerats, G.E. en Fransen T. Botbepaling van varkensmeat II. V.V.D.O.-rapport H 7607, 1976.
11. Bijker, P.G.H., Scholten, J.I.M., Fransen T. en Koolmees, P.A. Hygiënische aspecten bij de winning van mechanisch ontbeend varkensvlees. Tijdschr. Diergeneesk. deel 105, afl. 11, 433-439, 1980.

12. Bijker, P.G.H., Scholten, J.I.M., Fransen, T. en Koolmees, P.A. Microbiologische kwaliteit en chemische samenstelling van mechanisch ontbeend varkensvlees. Tijdschr. Diergeneesk. deel 105, afl. 11, 440-447, 1980.
13. Bijker, P.G.H. en Koolmees, P.A. Weefselsamenstelling van mechanisch ontbeend varkensvlees. Voeding, 42e Jaargang no. 10, 343-347, 1981.
14. Diller, H. Der Nachweis von kleinsten Knochenanteilen in Würst. Z. Unters. Lebensmittel 82, 17-19, 1941.
15. Van Dijk, L. en van de Molen, H. De bacteriologische gesteldheid en het botpercentage van pluimveemeat. Een oriënterend onderzoek. I.V.D.O.-rapport H 7410, 1974.
16. Van Gend, H.W. Über die Bestimmung und den Gehalt von Knochen-splittern in Fleischwaren. Z. Lebensmitt.-Untersuch., Band 146, 97-99, 1971.
17. Gerats, G.E. en Terbijhe, R.J. Kwantitatieve botbepaling in pluimveemeat volgens de KOH-methode. Voedingsmiddelentechnologie, nr. 6, 8-9, 1976.
18. Gerrits, A.R. Bereiding en eigenschappen van pluimvee-separatorvlees. Vleesdistributie en vleestecnologie no. 9, 22-23, 1981.
19. Gerrits, A.R. Bereiding en eigenschappen van separatorvlees. I.P.S.-rapport N 350, 1981.
20. Haken, J.W. Een snelle bepaling van het botgehalte van "boneless cooked chicken meat". De Ware(n)-Chemicus 6, 30, 1976.
21. Hill, R.M. en Hites, B.D. Determination of small bone particles in meat. J.A.O.A.C. 51, 1175-1177, 1968.
22. Kamm, L. en Coffin, D.E. Determination of the bone content of comminuted chicken. Can. Inst. Food Technol. J. Vol. 1, no. 3, 83-85, 1968.
23. Königsmann, R., Hildebrandt, G. en Sinell, H.J. Quantitativer Knochennachweis in Fleischerzeugnissen mittels Fernsehbilddanalyse. Arch. Lebensmittelhyg. 31, 6-12, 1980.
24. Kressmann, H. Vergleichende Untersuchungen an Knochenschrot und Futterfleischkonserven. Arch. Lebensmittelhyg. 8/9, 199-202, 1968.
25. Landbouwkwaliteitsverordening Rookworst in Verordeningenblad Bedrijfsorganisatie dd. 1981-12-14.

26. Linke, H. en Thumser, W. Zur Beurteilung von Knochen und Knorpelgewebe in Roh- und Brühwürsten. Arch. Lebensmittelhyg. 15, 201-203, 1964.
27. Linke, H., Arneth, W. en Bem, Z. Ein neues Verfahren zur mechanisierten Restfleischgewinnung unter hygienischen analytischen und lebensmittelrechtlichen Gesichtspunkten. Fleischwirtschaft 54, 1653-1660, 1974.
28. Mik, F. Een bepalingsmethode voor het beengehalte in kuikenmeat. I.P.S.-rapport 2075, 1975.
29. Romeis, B. Mikroskopische Technik, Oldenbourg Verlag, München, 1968.
30. Schaal, M. en Anhalt, G. Nachweis von Knochenpartikeln in Würsterzeugnissen. Arch. Lebensmittelhyg. 25, 164-166, 1974.
31. Schulze, K. Bestimmung des Knochengehaltes in Separatorenfleisch aus Schweineknochen. Arch. Lebensmittelhyg. 28, 166-169, 1977.
32. Sinell, H.J. Zum quantitativen Nachweis geringer Knochenmengen in Dosenleberwurst. Arch. Lebensmittelhyg. 7, 61-63, 1956.
33. Sommer, H. en Mülder, U. Eine Methode zur Bestimmung von Knochenpartikeln in Würsterzeugnissen aus Separatorfleisch. Fleischwirtschaft 55, 1730-1732, 1975.
34. Van Surksom, B. Een bepalingsmethode voor het beengehalte in kuikenmeat II. I.P.S.-rapport 3875, 1975.
35. Tändler, K. Hartseparatorenfleisch und Weichseparatorenfleisch: Vorschriften und Empfehlungen für Herstellung und Verarbeitung. Fleischwirtschaft 58, 535-545, 1978.
36. Tändler, K. USDA-Spezifikationen für "Separatorenfleisch" von Rinder- und Schweineknochen. Fleischwirtschaft 55, 1688-1690, 1974.
37. Uijttenboogaart, Th.G. en Mast, M.G. Functionele eigenschappen van pluimveeseparatorvlees en de bereiding van frankfurters en hamburgers. Vleesdistributie en vleestechnologie no. 9, 23-25, 1981.
38. Wallays, B. en van Hoof, J. Chemische karakteristieken van separatorvlees afkomstig van ham- en schouderbeenderen. Voedingsmiddelentechnologie nr. 27/28, 12-15, 1978.
39. Warenwet (Vlees- en vleeswarenbesluit 1981). Ed. Schuurman en Jordens. Uitgave Tjeenk Willink, Zwolle, 1977.

40. Wenzel, S., Anhalt, G., Schaal, M. en Froehner, H. Vergleichende Untersuchungen zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Knochengewebe in Fleisch- und Wursterzeugnissen durch direkte und indirekte Verfahren. Arch. Lebensmittelhyg. 25, 173-177, 1974.
41. Wilke, R. Separatorenfleisch. Z. Lebensm. Techn. Verftech. 28, (1), 29-30, 1977.