



Bepaling der waterstofionenconcentratie en bederf van vleesch

<https://hdl.handle.net/1874/296635>

A. Qu. 192, 1930

BEPALING DER WATERSTOFIONENCON- CENTRATIE EN BEDERF VAN VLEESCH

J. P. FOOY

BIBLIOTHEEK DER
RIJKSUNIVERSITEIT
UTRECHT.

BEPALING DER WATERSTOFIONENCON-
CENTRATIE EN BEDERF VAN VLEESCH

BEPALING DER WATERSTOFIONENCON-
CENTRATIE EN BEDERF VAN VLEESCH

BEPALING DER WATERSTOFIONENCON- CENTRATIE EN BEDERF VAN VLEESCH

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN
DOCTOR IN DE VEEARTSENIJKUNDE

AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT
OP GEZAG VAN DEN RECTOR MAGNIFICUS
JHR. DR. B. C. DE SAVORNIN LOHMAN
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER RECHTSGE-
LEERDHEID VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAAT
DER UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN
DE FACULTEIT DER VEEARTSENIJKUNDE TE
VERDEDIGEN OP **VRIJDAG 24 OCTOBER 1930**
DES NAMIDDAGS TE 4 UUR DOOR

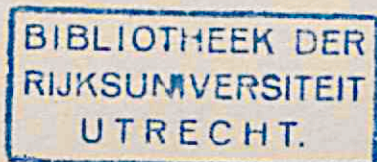
JACOBUS PIETER FOOY

GEMEENTE-VEEARTS TE SOERABAIA GEBOREN TE UTRECHT



1930

DRUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS, UTRECHT



Aan
de nagedachtenis van mijn vader.

Bij het indienen van dit proefschrift is het mij een behoefte U, Hooggeleerden, Lectoren, Conservatoren en Prosectoren der Veeartsenijkundige faculteit mijn groote erkentelijkheid te betuigen voor het onderwijs, dat ik van U mocht ontvangen, benevens voor de gastvrijheid, die U mij gedurende mijn verlof verleende.

Aan U, Hooggeleerde VAN OYEN, hooggeachte promotor, ben ik zeer veel dank verschuldigd, niet alleen voor de gelegenheid, die U mij gaf het te Soerabaia reeds aangevangen onderzoek over de waarde van de bepaling der waterstofionenconcentratie voor het aantoonen van bederf van vleesch in Uw instituut te voltooien, doch in het bijzonder voor de groote belangstelling en medewerking, die U in mijn werk toonde. Den aangenamen en leerrijken tijd, dien ik in Uw laboratorium mocht doorbrengen en van Uw rijke ervaring mocht profiteeren, zal ik niet licht vergeten.

Aan U, Zeergeleerde KOLKMEYER, betuig ik mijn erkentelijkheid voor de hulp bij het opstellen en gebruik van den potentiometer verleend.

Veel dank ben ik verschuldigd aan H.H. Directeuren en personeel van de slachthuizen te Utrecht en Amsterdam voor hunne medewerking bij het verzamelen van het benodigde onderzoekmateriaal.

Ten slotte rest mij een woord van dank aan het personeel van de afdeling: Kennis der menschelijke voedingsmiddelen van dierlijken oorsprong der Veeartsenijkundige faculteit voor hun medewerking aan de voltooiing van dit proefschrift.

INLEIDING

Evenals alle voedingsmiddelen van dierlijken oorsprong, is ook vleesch gemakkelijk aan bederf onderhevig.

Bij langdurig bewaren zijn hooge temperatuur en groote vochtigheidstoestand van de lucht wel de voornaamste factoren, welke bederf van dit voedingsmiddel in de hand werken. Het is daarom vanzelfsprekend, dat juist in de warme zomermaanden en in de tropen zooveel vleesch aan de consumptie moet worden onttrokken.

De oeconomische verliezen, welke daaruit voortvloeien, zijn niet gemakkelijk te becijferen, doch dat deze belangrijk zijn, blijkt wel uit de mededeelingen van *Maurice Pieltre* in zijn boek „*Inspection des Viandes et des aliments d'origine carnée*”, dat alleen in de Halles centrales te Parijs ongeveer een 100.000 K.G. vleesch, dat is ongeveer 30 % van de afgekeurde hoeveelheid, jaarlijks wegens bederf aan de consumptie moet worden onttrokken.

Het oeconomisch verlies is echter niet alleen van belang bij bederf. Het mag wel als bekend verondersteld worden, dat het nuttigen van bedorven vleesch in bijzondere gevallen ziekteverschijnselen bij den consument kan veroorzaken.

Vergiftigingen na het nuttigen van vleesch worden hoofdzakelijk toegeschreven aan specifieke kiemen, voornamelijk behorende tot de groep van de paratyphaceae (paratyphus B, enteritidis Gärtner), doch daarnaast is het toch bekend en zijn er vergiftigingen in de litteratuur vermeld, welke uitsluitend zijn en moeten worden toegeschreven aan de consumptie van bedorven vleesch of de daarin aanwezige niet specifieke kiemen. Het is wel is waar bij geen enkel dezer

vergiftigingen bewezen, dat de aanwezigheid van paratyphus bacillen was uit te sluiten, doch de klinische verschijnselen bij de zieken waargenomen en tal van andere omstandigheden pleiten zeer sterk voor de stelling dat de pathogeniteit van het vleesch direct samenhang met „bederf”, resp. rotting.

Zoo haalt *Meyer* (1910) 600 gevallen van vleeschvergiftigingen aan, welke volgens hem zouden veroorzaakt zijn door verontreiniging van vleesch met *Bac. Proteus*. Ook *Lenz* (1925) zijn tusschen de jaren 1907 en 1924, 367 gevallen bekend, welke moeten worden geweten aan het gebruik van bedorven vleesch, terwijl *Prof. Lenfeld* (1929) van meening is, dat deze vergiftigingen dikwijls moeten worden toegeschreven aan thermostabiele rottingsproducten, welke zich in het vleesch zouden kunnen vormen ten gevolge van door niet specifieke microorganismen te weeg gebrachte eiwit-omzettingen. *Schmidt-Muhlheim* (1912) verhaalt van een vergiftiging te Leipzig, veroorzaakt door vleesch, dat tengevolge van verpakking en hooge temperatuur tijdens het transport bedorven was. *Brouardel*, *Pouchet* en *Loye* deelden op het Internationaal Hygiënisch congres in 1889 te Parijs gehouden mede, dat vergiftigingen na gebruik van bedorven vleesch het meest werden geconstateerd, als het rauw was genuttigd, maar dat ook een enkele maal vergiftigingen waren bekend geworden na het nuttigen van gekookt bedorven vleesch. Hij concludeerde hieruit, dat de oorzaak veelal moest gezocht worden in de aanwezigheid van toxische stoffen, ptomainen, daar bacteriën bij het verhitten worden gedood. Ook *Jeserich* en *Niemann* (1893) namen vergiftigingen waar na het gebruik van weerzinwekkend riekende hammen, terwijl *Moulé* (1905) vergiftigingen heeft waargenomen na het nuttigen van bedorven vleeschwaren, waaruit hij coli- en proteusbacillen kweekte. Hij verdeelt de vleeschvergiftigingen in drie groepen: de Gärtnergroep, als de belangrijkste, doch daarnaast als tweede, de groep van saprophyten (coli en proteus) en als derde nog de specifieke anaerobe *Bac. botulinus*.

Het hoeft ons daarom geen verwondering te baren, dat

zoovele onderzoekers zich sinds vele jaren hebben beziggehouden met het opsporen van de oorzaak en het wezen van het bederf van vleesch. Dat daarbij aan de verschijnselen, welke bij bederf optreden, een belangrijke plaats werd ingeruimd, spreekt wel vanzelf, terwijl vooral daarbij werd nagegaan, of verschijnselen van beginnend bederf waren aan te toonen.

Vele methoden, veelal berustend op chemischen of biologischen grondslag, zijn in den loop der jaren door verschillende auteurs aangegeven om bederf en speciaal dit beginnend bederf te constateeren, doch men kan zeggen, dat geen der tot dusver bekende methoden algemeen ingang heeft gevonden, waaruit men wel de conclusie kan trekken, dat zij ook geen van alle voldoen. Het gevolg hiervan is, dat het *organoleptisch onderzoek* bij het aantoonen van bederf zich boven alle andere methoden heeft staande gehouden, zoodat deze methode nog algemeen bij alle keuringsdiensten en door alle keurmeesters, bij gebrek aan een betere wordt toegepast.

Het dient echter erkend, dat de organoleptische methode, welke inhoudt een onderzoek door de menschelijke zintuigen van de reuk, kleur, consistentie, eventueel de smaak van het te onderzoeken voedingsmiddel, verre van ideaal is. De appreciatie, de interpretatie van de waargenomen veranderingen zijn bij de verschillende beoordeelaars verschillend, ja zelfs bij denzelfden beoordeelaar op verschillende tijdstippen anders. De eene keurmeester zal veel strenger en misschien ook scherper waarnemen en beoordeelen dan de andere, zoodat wat de een nog goed oordeelt, de ander reeds als bedorven en ongeschikt voor de consumptie kwalificeert. Dezelfde keurmeester zal ook den eenen dag heel anders oordeelen dan den anderen, zoodat men aan een onwillekeurige willekeur bij het onderzoek naar de deugdelijkheid niet kan ontkomen. Men kan dan ook in het algemeen wel zeggen, dat het gemis van een betere methode door vele met de keuring van vleesch belaste deskundigen zeer ernstig wordt gevoeld.

In mijn hoedanigheid van Gemeentevéearts, tevens belast

met de keuring van vee en vleesch, in de Gemeente Soerabaja, voelde ik dit gemis al zeer sterk.

De hooge temperatuur en groote vochtigheidstoestand van de buitenlucht, de wijze waarop het vleesch na het verlaten van het slachthuis in de vleeschwinkels wordt bewaard en later op de vleeschpasars (markten) wordt verkocht, zijn alle factoren, welke een vroegtijdig bederf in de hand werken, zoodat dagelijks veel vleesch om die reden aan de consumptie moet worden onttrokken.

De beoordeeling, of bederf al of niet was opgetreden, leverde geregeld moeilijkheden op, vooral bij het lagere personeel met de inspectie van de vleeschpasars belast. Het gebeurde dan ook niet zelden, dat eigenaren van afgekeurd vleesch bij mij, als Hoofd van den Keuringsdienst, „in beroep” kwamen en ik moet erkennen, dat het dan dikwijls moeilijk was een eindoordeel uit te spreken. Tevens betrapte ik mij er herhaaldelijk op, dat ik buiten mijn wil den eenen dag veel meer geneigd was wat door de vingers te zien en goed te keuren dan den anderen dag, zoodat ik tot de conclusie kwam, dat de organoleptische beoordeeling heel sterk afhankelijk was van de scherpthe van waarneming op dat moment en ook niet zelden van de stemming van den beoordeelaar. Een concrete waarneming, iets waaraan men houvast had, ontbrak.

Dit gemis deed mij naar een betere, meer objectieve methode zoeken. Uit de litteratuur was mij bekend, dat de reactie van bedorven vleesch veranderde en door de vorming o.a. van NH_3 naar den alcalischen kant zou verschuiven. Von *Ostertag* vermeldt in zijn bekende handboek (1923), dat men door middel van lakmoespapier zich van dezen reactieomslag kan overtuigen. Het bleek mij, dat deze methode te grof is om bederf aan te toonen en bij beginnend bederf, dus juist in die gevallen waarbij het zoo moeilijk is een beslissing te nemen, geheel te kort schiet.

Uit proeven, in het Gemeentelijk Laboratorium voor vleesch- en melkonderzoek verricht, bleek mij, dat de bepaling der waterstofionenconcentratie van vleesch een goede methode

is om bederf en beginnend bederf aan te toonen en tevens, dat men gemakkelijk en eenvoudig zonder vele en kostbare hulpmiddelen deze methode in de praktijk kan verrichten.

Door vele bepalingen van deze waarde kreeg ik voorts een inzicht in de veranderingen, welke post-mortem in vleesch, afkomstig van gezonde slachtdieren optreden. Op de dienst-conferentie van den Burgerlijken Veeartsenijkundigen Dienst in Maart 1929 te Bandoeng gehouden, kon ik over dit onderwerp voorloopige mededeelingen doen, welke mededeelingen zijn verschenen in de Nederlandsch-Indische Bladen voor Diergeneeskunde, Deel XLI, afl. 2, 1929.

Door Prof. van Oyen werd mij gelegenheid gegeven, aansluitend aan de door mij reeds gedane waarnemingen, in het Laboratorium voor Kennis der Menschelijke Voedingsmiddelen van Dierlijken Oorsprong van de Veeartsenijkundige Faculteit der Rijks-Universiteit te Utrecht, dit onderwerp nader te bestudeeren en tot een proefschrift te bewerken.

Deze en de in het eerstgenoemde laboratorium verrichte proefnemingen, vormen gezamenlijk de grondslagen voor de volgende hoofdstukken van dit proefschrift.

Achtereenvolgens zullen worden behandeld:

- | | | |
|-----------|------|---|
| Hoofdstuk | I. | Een Litteratuuroverzicht over de veranderingen, welke in vleesch post-mortem optreden en de methoden om deze aan te toonen. |
| " | II. | Het begrip waterstofionenconcentratie (pH). |
| " | III. | Beschrijving van de gebruikte methoden om deze pH te bepalen: |
| | | a. langs potentiometrischen weg. |
| | | b. langs colorimetrischen weg. |
| " | IV. | Onderzoekingen te Soerabaja verricht. |
| " | V. | Onderzoekingen te Utrecht verricht. |
| " | VI. | Beschouwingen en conclusies. |
| " | VII. | Geraadpleegde litteratuur. |

HOOFDSTUK I

LITTERATUUROVERZICHT OVER DE VER- ANDERINGEN, WELKE IN VLEESCH POST- MORTEM OPTREDEN EN DE METHODEN OM DEZE AAN TE TOONEN

De veranderingen, welke na den dood van het dier in het dierlijk lichaam optreden, vat men in den regel samen onder den naam van *thanatologische veranderingen*.

Volgens *Glage* (1913) rekt men daartoe:

- a. het stollen van het bloed en de afscheiding van het serum;
- b. de lijkstijfheid, welke na den dood optreedt;
- c. het hard worden van het vet;
- d. de vorming van melkzuur, koolzuur, ammoniak en H_2S , welke speciaal in het spierweefsel zou plaats vinden.

Tal van deze verschijnselen met nog vele andere worden in het dagelijksch leven aangeduid met den naam *besterven*, terwijl men daarnaast en als uiterste het begrip *bederf* onder de thanatologische veranderingen kan rangschikken.

§ 1. *Het besterven van vleesch.*

Bepalen wij ons eerst tot het begrip besterven, dan bedoelt men hier algemeen mede, het rijpingsproces van het spierweefsel, dat zich uit in de temperatuursverhooging direct na den dood, het optreden van de lijkstijfheid, de vorming van melkzuur en eventueel andere zuren, waardoor mede de stolling der eiwitten plaats vindt, de werking der enzymen, waardoor deze stijfheid later weer wordt opgeheven, in het algemeen, die processen, welke aan het vleesch zijn betere houdbaarheid

en later zijn grootere smakelijkheid en verteerbaarheid geven.

Tenslotte kunnen mogelijke geringe bacteriële veranderingen hier ook nog bij worden genoemd.

Vleesch bestaat volgens *R. H. A. Plimmer* (Practical Organic and Biochemistry 1918) uit ongeveer 75 % water en 25 % vaste stoffen.

Van deze vaste stoffen behoort 20 % tot de proteïnen, 3 % tot de extractieve stoffen, 1 % tot de vetten en nog 1 % tot de zouten.

De levende spier bestaat uit het half vloeibare protoplasma, waarvan de reactie ten opzichte van lakmoes neutraal is. Bij den dood vindt een phaseverandering plaats, waarbij deze halfvloeibare toestand in een meer vaste overgaat. Zoodoende ontstaat de rigor mortis of lijkstijfheid. De reactie wordt dan zuur door de vorming van melkzuur.

De verandering van de soltoestand der eiwitten in de gel-toestand wordt versneld door hooge temperatuur en de aanwezigheid van zuren. Bij alcalische reactie en bij afwezigheid van zouten komt deze niet tot stand.

Het is bekend, dat de melkzuurvorming zoowel tijdens het leven bij de spiercontracties als na den dood een zeer belangrijke factor is, terwijl, hoe krachtiger de spierarbeid is, hoe meer melkzuur gevormd wordt.

Ieder kan waarnemen, dat het spierweefsel van pas geslachte dieren levendige trekkingen uitvoert. De kleur van het spierweefsel is donkerrood, de consistentie „fest weich” (*Ostertag*). Dit vaste nog prikkelbare spierweefsel is glanzend, welke glans niet lang blijft bestaan. Heeft het vleesch eenigen tijd gehangen, dan heldert de kleur op en krijgt het spierweefsel een meer helderrood aspect. Daarnaast worden de verschillende spiergroepen stijf en hard en daardoor de gewrichten onbuigzaam, m.a.w. lijkstijfheid treedt op. Het vleesch krijgt daarbij een aangename zure lucht.

De verschijnselen worden veroorzaakt door het coaguleeren van het spiereiwit (myosine) mede ten gevolge van de vorming van vleeschmelkzuur in de spieren.

Dit melkzuur ontstaat vermoedelijk uit het glycogeen, want na het ophouden van de bloedcirculatie vindt een snelle omzetting van het glycogeen in het spierweefsel plaats. Deze lijkstijfheid treedt in den regel op 10 à 15 minuten tot meerdere uren na den dood en blijft eenige dagen bestaan, om ten gevolge van sterkere zuurvorming, welke het myosine weder zou oplossen en tengevolge van autodigestie volgens *Salkowski* of autolysis volgens *Jacoby* wederom te verdwijnen.

Is vleesch in dit stadium gekomen, dan is het geheel gerijpt of bestorven en het smakelijkst voor de consumptie.

Meyer (1910) en ook anderen voor hem hebben dit zuur worden van het vleesch bij het besterven waargenomen. Hij deelt mede, dat het spierweefsel karakteristieke structuurveranderingen ondergaat, welke rijping (*Reifung*) worden genoemd. Eerst treedt lijkstijfheid op, doordat, zooals hij het noemt, zekere colloïdstoffen van de cellen coaguleeren. Vervolgens treedt een duidelijk waarneembare (sinnlich wahrnehmbar) verandering op. De te voren harde, taaie, saplooze spier wordt murw, zacht en saprijk, terwijl reuk en smaak aangenaam zuur worden. Deze rijping vindt plaats binnen twee weken in onze koelhuizen bij een temperatuur van 2—4° C. Hij wijt de oorzaak van deze verandering aan de werking van bacteriën of orgaanfermenten.

W. Eber (1891) beschouwt het rijpingsproces daartegenover als een zure gisting. *Glage* (1903), die van de postmortale veranderingen van vleesch uitgebreide studies heeft gemaakt, beschouwt het rijpen meer als een physiologische destructie, waarbij partieele voortzetting van de gewone levensfuncties plaats vindt. Het rijpingsproces volgens *Glage* geschiedt onder invloed van fermentatieve functies, waaraan men den naam autolysis kan geven. Enzymen, door de cellen gevormd, zouden na den dood hun werking blijven verrichten; tegen de definitie van zure gisting van *Eber* verzet *Glage* zich, omdat volgens hem bij het rijpen van vleesch bacteriën geen rol spelen, daar vleesch dat bij den dood absoluut steriel is even goed besterft.

Tot dezelfde conclusie komt *Müller* (1904). Hij huldigt eveneens de opvatting, dat het besterven berust op een zuiver fermentatieve functie door *Salkowsky* aangeduid als autodigestie, door *Jacoby* met den naam van autolysis bestempeld. Dit proces geschiedt volgens *Müller* het beste, alhoewel langzamer, wanneer het vleesch aan koeling wordt onderworpen. Na acht dagen heeft het besterven dan een dusdanigen graad bereikt, dat het aangenaam zuur is geworden. Hij heeft opgemerkt, dat de nog levenswarme spier oorspronkelijk neutraal reageert, welke reactie na den dood duidelijk zuur wordt.

Straitz (1910) heeft getracht dit zuur worden met lakmoes aan te toonen. Hij bepaalde de reactie bij varkens-, rund- en schapenvleesch en ook van vogels, zoowel direct als eenige uren na den dood. Hij komt tot de conclusie, dat deze zeer wisselend is en b.v. geen criterium is voor het aantoonen van sepsis. Dat het hem niet gelukt is, verwondert ons, gezien de toegepaste grove methode, niet. Gelukkiger was reeds *Kren* (1901). Zijn onderzoekingen hebben uitgewezen, dat den eersten dag na den dood de aciditeit regelmatig stijgt. Hij constateerde daarbij tegelijkertijd door middel van formoltriaties, dat ook een hydrolytische eiwitsplitsing plaats vond.

Het is langen tijd een strijdvraag geweest of het besterven van vleesch uitsluitend berustte op fermentatieven grondslag of dat bacteriën daarbij ook een rol zouden spelen.

Conradi (1901) verwerpt noch het een noch het ander. Hij meent door middel van zijn „Anreicherungs-methode” te hebben aangetoond, dat ieder stuk vleesch kiemhoudend is en het gelukte hem zelfs in 18 van de 57 gevallen, kiemen in het levende spierweefsel te vinden. *Glage* die de opvatting van *Eber* eerst bestreed, spreekt in zijn latere publicaties over zoogenaamde glacide bacteriën, welke zich bij 0° C. kunnen vermeerderen. Hij noemt ze ook wel Aroma-bacteriën, omdat hij aan de werking van deze kiemen een goeden invloed op den smaak toekent. Hij beschouwt ze als gewone vleeschbacteriën en heeft ze uitsluitend gevonden

op verse vochtige stukken vleesch uit het koelhuis. Hij onderscheidt zeven soorten, welke oorspronkelijk groeien op de vleeschoppervlakten. Bij intredend bederf zouden deze kiemen door rotting veroorzakende bacteriën worden overwoekerd.

Meyer heeft eveneens getracht den invloed van bacteriën op het rijpingsproces na te gaan. Het gelukte hem in bouillon cultures van *Bac. prodigiosus* en *liquefaciens*, gekweekt bij 4° C. lebfermenten aan te toonen, welke melk deden stollen en hij trekt hieruit de conclusie, dat het zeer wel mogelijk is dat bij deze temperatuur ook andere fermenten worden gevormd, welke bij het rijpingsproces een rol zouden kunnen spelen. Ook hem gelukte het reeds binnen 6 uur na den dood kiemen in de diepte aan te toonen.

Conradi, die deze bevinding eveneens in zijne publicatie vermeldt, hecht niettegenstaande dit toch meer waarde aan de eigen fermenten dan aan den invloed van bacteriën bij het bestervingsproces, en veronderstelt, dat de kiemen door hun werking de fijne smaak aan het vleesch geven. Hij zegt dan ook: „Ohne Autolyses keine Fleischreifung, ohne Bakteriën kein haut-goût”.

Het lijkt mij in verband met onze tegenwoordige kennis van weinig belang dieper in te gaan op dit vraagstuk, daar men dit kan terug brengen op de vraag of normaal vleesch afkomstig van gezonde slachtdieren al of niet kiemhoudend is. *Van Santen* heeft deze vraag in zijn academisch proefschrift 1924 reeds duidelijk beantwoord en aangetoond, dat dergelijk vleesch steriel is en bij goede bewaring steriel blijft. Hiermede vervalt naar mijn meening de beteekenis van de zoogenaamde glacide en aromabacteriën van *Glage* en *Conradi* en hunne functies bij het rijpingsproces van vleesch, terwijl mochten zij toch een rol daarin spelen, deze zeker secundair en zeer ondergeschikt zal zijn.

Toch is het eigenaardig, dat er nog verschillende auteurs versch, gezond vleesch niet noodzakelijk als kiemvrij aanmerken. Zelfs in publicaties van recenten datum en meest

van Amerikaansche zijde, leest men nog geregeld over het vinden van kiemen, zoowel aerobe als anaerobe in vleesch van pas geslachte en gezonde slachtdieren.

Bij de bespreking van het bederf van vleesch wordt daarbij nader op terug gekomen.

In een zoo juist verschenen speciaal rapport uitgegeven door het Department of scientific and industrial research te Londen bezien *Moran* en *Smith* dit onderwerp nog eens van den meer praktischen kant. Ze beschrijven de rigor mortis. Dit proces speelt zich normaliter binnen 24 uur af. De volgende veranderingen hebben ze daarbij waargenomen:

hard en stijf worden van het spierweefsel,

verlies van elasticiteit,

verlies van doorzichtigheid,

verlies van electrische prikkelbaarheid,

vorming van melkzuur,

ontwikkeling van warmte, door hen aangeduid met de benaming van heat-rigor.

Volgens hen gaan al die verschijnselen gepaard en hand in hand met de vorming van melkzuur, doordat dit zuur doet coaguleeren de strooperig vloeibare (sirupi-liquid) spiersubstantie. Ze hebben ook opgemerkt, dat het protoplasma van de spier in den regel alcalisch reageert, welke reactie na eenigen tijd zuur wordt, waardoor een „gel” wordt gevormd. De snelheid van die reactieveranderingen zijn afhankelijk van de temperatuur. Bij lage temperatuur treedt weinig verandering op, zoodat men het vleesch niet direct na het slachten in het koelhuis moet doen, doch eerst eenigen tijd bij buitenlucht temperatuur moet bewaren. Algemeen is bekend, dat een pas geslacht dier nog levenswarm zijnde (ongeveer $37\frac{1}{2}$ °C.), bij directen invoer in een koelhuis aan de koude lucht, naast veel vocht veel warmte afstaat. Het is minder bekend, dat bij het stijf worden van het vleesch zich in de spieren nog een belangrijke hoeveelheid warmte ontwikkelt, zoodat niet alleen ondanks uitstraling en verdamping, de bouten gedurende enkele uren even warm blijven, doch bovendien in het inwendige

nog een temperatuursstijging van ruim een graad kan worden waargenomen. De schrijvers vergelijken het stollingsproces van de spiervezels met de stolling van bloed, alleen geschiedt de stolling van de spiereiwitten onder invloed van het melkzuur. Bij hogere concentraties van dit zuur zou dit weer aanleiding kunnen geven tot verslapping, welke laatste echter mede wordt veroorzaakt door de inwerking van diverse enzymen, die in de spiercellen aanwezig zijn of daarin ontstaan. *Moran en Smith* beschouwen de invloed van bacteriën als te verwaarloozen klein.

Zij komen in hun rapport dan ook tot de conclusie, dat door lang bewaren de smakelijkheid en verteerbaarheid van het vleesch aanmerkelijk wordt verhoogd. Ze spreken dan van een goede „conditioning of ripening of beef”. Om dus een goede kwaliteit vleesch te krijgen, verwerpen ze de waarde van de keuze der slachtdieren (ras en leeftijd) niet, doch hechten daarnaast nog veel meer waarde aan de behandeling van het vleesch als boven aangegeven. Verder maken ze er ons nog eens op attent, dat de dieren vlak voor het slachten geen lange spoorreizen of marschen achter den rug moeten hebben en natuurlijk niet ziek mogen zijn. Vooral sterk vermoeide slachtdieren bloeden zeer onvoldoende uit, waardoor onvoldoend besterven en onvoldoend zuur worden van het vleesch plaats vindt en dientengevolge snelle bacteriëngroei optreedt. In Engeland wordt daarom den dieren voldoende rust gegeven, in den regel ongeveer 24 uur, terwijl de laatste 16 uren geen voedsel meer wordt toegediend, doch wel voldoende drinkwater.

Niettegenstaande in het voorgaande duidelijk naar voren is gebracht, van welk groot belang het besterven en rijpen van vleesch is voor de houdbaarheid, smakelijkheid en verteerbaarheid van dit belangrijke voedingsmiddel, verwondert het ons, dat men in de veterinaire vakliteratuur over dit onderwerp zoo betrekkelijk weinig vermeld vindt; des te meer aandacht is echter besteed geworden aan het *bederf* als tweede belangrijk thanatologisch verschijnsel.

§ 2. *Het bederf van vleesch.*

Ongetwijfeld is het groote oeconomisch belang en het gevaar verbonden aan het nuttigen van bedorven vleesch aan deze meerdere belangstelling niet vreemd. Ook aan de factoren, waardoor het bederf in het algemeen wordt veroorzaakt en de methoden om dit aan te toonen is veel aandacht besteed geworden.

*Gotschlich*¹⁾ zegt dat het bederf omvat alle omzettingen van stikstofhoudende, hoofdzakelijk eiwitachtige substanties door verschillende soorten bacteriën, waarbij in den regel gasvormige, onwelriekende eindproducten ontstaan.

Bederf kan veroorzaakt worden onder invloed van zoowel aerobe als anaerobe kiemen, doch in den regel door beide tegelijk.

Het bederf, door aerobe kiemen te weeg gebracht, begint gewoonlijk aan de oppervlakte en schrijdt via het bindweefsel en de bloedvaten naar de diepte voort.

Glage-Edelmann (1920) spreken bij bederf van een incubatiestadium, in welk stadium aan de oppervlakte van het vleesch hier en daar bacteriën-koloniën zijn waar te nemen. Daarna neemt men het peptoniseeren van de oppervlakte waar, waardoor deze kleverig wordt. Dit kleverig worden wordt in den regel door proteusbacteriën veroorzaakt. De oppervlakte wordt daarbij stinkend en krijgt t.o.v. lakmoes een alcalische reactie. Veelal treedt daarbij nog een groenachtige verkleuring op (omzetting van bloedkleurstof).

Vervolgens dringt het bederf naar de diepte door. Toch wordt het vleesch dikwijls als geheel bedorven beoordeeld, terwijl bij doorsnijden blijkt, dat slechts de zeer oppervlakkige laag is aangetast. Speciaal ziet men dit bij vleeschstukken met zeer weinig bindweefsel en bloedvaten.

Edelmann (1920) noemt als organoleptische waarneembare verschijnselen: verandering van kleur, consistentie, reuk en smaak. Macroscopisch wordt het spierweefsel dof, terwijl microscopisch de dwarsstreeping te loor gaat en veel bacteriën erin worden waargenomen.

¹⁾ Zie v. *Ostertag* — Handbuch der Fleischbeschau, 1923.

Von Ostertag (1923) geeft in zijn handboek een uitvoerige beschrijving van bederf van vleesch. Hij wijst erop, dat het uitdrogen van de oppervlakte door de natuurlijke verdamping van het vleeschwater van beteekenis is om bederf te voorkomen. De droge of uitgedroogde oppervlakte is een slechte voedingsbodem voor bacteriën en voorkomt ook het indringen. Wordt vleesch ondoelmatig bewaard, b.v. versch geslachte runderen te dicht op elkaar, dan blijven de oppervlakten vochtig en zijn dan juist een goede voedingsbodem voor allerhande kiemen.

Von Ostertag verstaat onder bederf een snelle omzetting van de eiwitachtige substanties in een detritusmassa onder vorming van stinkende en gasvormige producten, doch wijst er tevens op, dat bederf niet alleen omvat de eiwitten, doch ook de vetten en koolhydraten.

De producten, welke bij bederf in vleesch gevormd worden zijn:

gassen (CO_2 , CH_4 , N_2 , NH_3 , H_2S),

vetzuren (mieren-, azijn-, boter-, baldriaan-, palmitine-, capron-, oxy- en meerbasische zuur: (melkzuur, barnsteen- en oxaalzuur),

en verschillende andere stoffen (aminen, amidozuren, amiden, leucine, tyrosine, aromatische zuren en verder indol, scatol, pepton, ptomainen en toxinen).

Een eigenlijk stinkend bederf met de talrijke tusschenproducten vindt men vrijwel uitsluitend bij afwezigheid of vermindering van lucht (zuurstof).

Bij rijkelijke aanwezigheid van lucht neemt men een snellere en meer volledige omzetting tot meer eenvoudige eindproducten waar.

Ottolenghi (1913) wijst op de vermindering van het gehalte aan glycogeen bij bederf en heeft waargenomen dat dit in 24 uur vermindert met ongeveer 21—50 % bij 14—16° C., terwijl na 72 uur alle glycogeen is verdwenen.

Von Ostertag geeft in zijn boek verslag van de waarnemingen van *Reil* over het chemisme van eiwitbederf. Hij

gaat uit van de samenstelling van het eiwitmolecuul. De bouwstenen hiervoor zijn de aminozuren, welke een centrale C kern hebben, waaraan verbonden zijn 4 zijketens, nml.:

een carboxylgroep (COOH), welke zuur reageert,

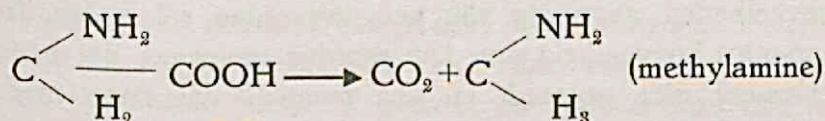
een basische amino (NH₂) groep,

een H₂ groep, terwijl de 4de

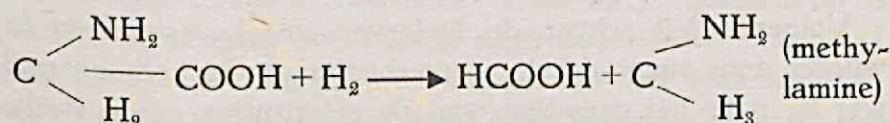
een wisselende X keten is.

Het wezen van het bederf bestaat in de omzetting van deze aminozuren. Neemt men glyocol: CH₂ NH₂ COOH als voorbeeld, dan geschiedt volgens *Reil* het volgende:

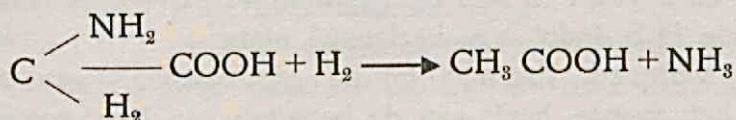
Uit de carboxylgroep scheidt zich CO₂ af, zoodat overblijft methylamine, aldus:



Door reductie met waterstof kan zich mierenzuur afscheiden, als volgt:



doch ook azijnzuur aldus:



Het in het laatste geval gevormde NH₃ wordt gebonden, daar gelijktijdig, behalve azijnzuur, CO₂ en mierenzuur wordt gevormd.

Behalve dus, dat NH₃ en de genoemde zuren worden gevormd, ontstaat Methylamine en bij de splitsing van hoogere aminozuren lecithine en andere eiwitachtige stoffen.

De aromatische splitsingsproducten komen van de X keten.

Bij bederf wordt het door autoenzymen ingeleide rijpingsproces door bacteriëenzymen voortgezet en houdt niet,

zoals bij de omzetting van eiwit in den darm halt, doch pas wanneer de vorming van meer elementaire eindproducten als NH_3 , H_2S , mercaptanen, CO_2 , CH_4 en H_2 heeft plaats gevonden. Daarbij ontstaan intermediaire producten, welke giftig voor den gebruiker kunnen zijn.

Ook de vetten worden veel verder ontleed dan tot glycerine en vetzuren. Uit glycerine ontstaat door waterafplitsing het allylaldehyde. De vetzuren worden door O_2 opname en onder invloed van het zonlicht omgezet in vluchtige onaangenaam riekende stoffen. Bij de omzetting van dierlijke voedingsmiddelen kunnen de koolhydraten, indien ze in belangrijke hoeveelheden aanwezig zijn een voorname rol spelen. Een zoodanige hoeveelheid zuur kan worden gevormd, dat bederf heelemaal niet optreedt en een toestand van zuur worden ontstaat, hetgeen eveneens geschiedt als de gasvormige rottingsproducten blijvend gebonden worden, zoodat men van bederf heelemaal niets bemerkt.

Volgens *Reil* schijnt de bedorven smaak veroorzaakt te worden door ammoniakale zoutverbindingen. In verband met wat hij over het chemisme van de eiwitrotting mede deelt, hecht hij maar betrekkelijke waarde aan de bepaling van NH_3 en aminen en aan de bepaling van de hoeveelheid gevormde H_2S , indol, e.a. heelemaal niets.

Hij vermoedt, dat men bij de „diagnostiek” van bederf nog het meeste heeft aan de bepaling van het kiemgehalte van het vleesch. Op deze diagnostiek van bederf en de waarde van het kiemgehalte wordt later nog terug gekomen.

a. *Het aantonen van bederf langs chemischen weg:*

Het hoeft ons na deze beschouwing over het chemisme van de rotting niet te verwonderen, dat zoovele en vooral chemisch gevormde onderzoekers getracht hebben door het aantonen van verschillende rottingsproducten bederf te constateeren.

Het is echter een feit gebleken, dat indien een of meer-

dere stoffen kunnen worden aangetoond, bederf in den regel reeds zoodanig is ingetreden, dat chemische methoden wel geheel en al overbodig zijn om het betreffende vleesch ongeschikt voor de consumptie te verklaren. De kleur, consistentie en vooral de reuk zijn dan wel dusdanig veranderd, dat men alleen op grond van de organoleptische bevindingen het vleesch kan afkeuren.

De oudste methode om bederf van vleesch aan te toonen is de klassieke methode van *Eber* (1891), ook wel bekend als de salmiakproef. Deze is gebaseerd op het aantoonen van vrij NH_3 . Het reagens door *Eber* indertijd voorgeschreven, bestond uit een mengsel van 1 deel sterk zoutzuur, 3 deelen alcohol en 1 deel aether. In een wijde reageerbuis wordt 1 c.c. van deze vloeistof gedaan en door middel van een glasstaaf een klein stukje vleesch 1 c.M. ongeveer boven het vloeistofniveau gebracht. Bij aanwezigheid van vrij NH_3 ontstaat binnen eenige seconden een witte nevel. Deze nevel is dichter, naar mate het vleesch meer bedorven is. De nevel kan reeds na korten tijd den inhoud van het glas opvullen en zich als een wit beslag aan de wanden van de buis vasthechten. Door *Eber* is de methode volgens een latere publicatie nog eenigermate gemodificeerd.

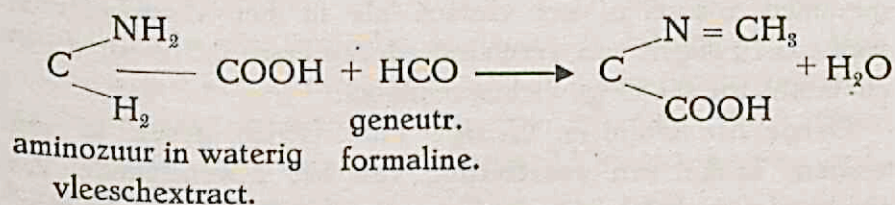
C. Mai (1913) vestigde eveneens zijn aandacht op de vorming van NH_3 , doch daarnaast op het ontstaan van aminozuren, aminen, oxyzuren, H_2S , ptomainen, indol, scatol e.a. De beide laatsten acht hij echter ongeschikt, daar zij alleen aanwezig zijn bij sterk bederf. De ptomainen worden niet altijd gevormd. Van de salmiakproef zegt hij, dat ze niet betrouwbaar is, daar de NH_3 vorming te veel verschillend is en dikwijls zelfs bij hetzelfde onderzoek nu eens af, dan weer toe neemt. Volgens *Mai* zou men misschien aan de verhouding NH_3 : totaal N_2 wat houvast hebben, doch hij komt tot de conclusie, dat er zich in het eerste stadium van bederf geenerlei chemische omzettingen laten waarnemen. Hij betreurt dit ten zeerste, daar het juist het

beginnend bederf is, dat den „Nahrungsmittel-chemiker” zoo interesseert.

Glage (1902) heeft ook op het gebied van bederf verschillende onderzoeken gedaan. Hij meent, dat de vorming van N_2 houdende gassen in den regel is terug te voeren tot bacteriële omzettingen, doch in concrete gevallen geen bewijs levert en geen specifiek verschijnsel van bederf is. In talrijke gevallen is het chemisch onderzoek niet voldoende en de beoordeeling wordt dan ook volgens hem uitsluitend door den uitslag van het bacteriologisch onderzoek beïnvloed. Over de waarde van de salmiakproef geeft hij geen uitsluitel, doch hij merkt wel op, dat er geen verband bestaat tusschen vergift (toxine vorming) en NH_3 vorming.

O. Ottolenghi (1913) wijst eveneens op de moeilijkheid om beginnend bederf aan te toonen. Hij verwerpt de Ebersche salmiakproef als totaal onbruikbaar. Ook bij het bepalen van stoffen, als indol en scatol komt hij tot de conclusie, dat er chemisch weinig verschil bestaat tusschen versch en bedorven vleesch. *Ottolenghi* liet even als ik bij mijne proefnemingen heb gedaan, goed vleesch tot bederf overgaan. Hij schrijft het intreden van bederf toe aan bacteriën, hoofdzakelijk aerobe, welke vanuit de oppervlakte naar de diepte toe gaan. De schimmels blijven meer aan de oppervlakte en doorwoekeren het vleesch niet. De bacteriën geven volgens *Ottolenghi* een typische „Verdauungsabbau” van het eiwitmolecuul. Evenals *Reil*, hecht hij groote waarde aan de bepaling van het kiemgehalte en zegt, dat men al van bederf kan spreken, als er veel kiemen in het vleesch aanwezig zijn. Hoe hoger de temperatuur van de lucht is en hoe grooter de vochtigheidsgraad, hoe sneller het bederf intreedt. Hij wijst er ook op, dat het heel veel gebeurt, dat vleesch erg stinkt en kleverig en verkleurd is, uitsluitend aan de oppervlakte, terwijl het in de diepte nog goed is. Hij zegt dan ook zeer terecht, dat men bij de beoordeeling niet alleen naar de oppervlakte moet kijken, doch ook het binnengedeelte moet onderzoeken.

Evenals andere onderzoekers beschouwt hij het begin van bederf als een proteolyse en hij heeft getracht deze tijdig te kunnen aantonen. Hij heeft geprobeerd de bij die proteolyse gevormde aminozuren aan te toonen door middel van de methode van Sörensen beschreven in *H. Jensen-Hansen*, (*Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden*). Behandelt men aminozuren met geneutraliseerde formaline, dan ontstaat een methylengroep, welke zuur reageert, aldus:



Het, door zijn NH_2 en COOH groep amfotere aminozuur wordt omgezet in een zure Methylengroep, welke door alcali kan worden getitreerd. Storende andere zuren (CO_2 , fosforzuur en hun zure zouten) mogen niet aanwezig zijn.

Waardevolle uitkomsten heeft deze methode niet gegeven, althans hij is er niet in geslaagd, een grens of hoeveelheid aan te geven, waarbij men kan spreken van beginnend bederf.

Niettegenstaande de minder goede uitkomsten met de salmiakproef is de aandacht van verschillende onderzoekers toch op de vorming van NH_3 gevestigd gebleven.

K. George Falk, Emil Baumann en Grage Mc Guire (1919) wijzen eveneens op het belang een goede methode te bezitten om beginnend bederf te kunnen constateeren, vooral omdat de schrijvers meenen dat er vleeschvergiftigingen bij den mensch bekend zijn, welke worden toegeschreven aan het nuttigen van bedorven vleesch. Ze gingen in het bijzonder na de N_2 wisseling bij de eiwitrotting. Ze hebben onderzocht de totale hoeveelheid N_2 in goed en in bedorven vleesch; verder de N_2 niet aan eiwit gebonden; de N_2 uit gevormd NH_3 ; de hoeveelheid N_2 uit kreatinine en uit purinen. Het zou mij te ver voeren hunne onderzoekingsmethoden in extenso te vermelden. Ik wil mij bepalen uitsluitend tot de

resultaten van hun onderzoek. Ze constateerden, dat indien het vleesch bewaard bleef in een koelhuis van $2-5^{\circ}\text{C}$., zelfs na 9 dagen geen verandering optrad.

Dit was wel het geval bij bewaring bij een temperatuur van ongeveer 15°C . De totale hoeveelheid N_2 was weinig veranderd evenals de N_2 niet aan eiwit gebonden. Ook de kreatine en purine N_2 had weinig verandering ondergaan, doch wel werd een sterke vermeerdering van de NH_3 waargenomen, zoowel in het vleesch als in het vleeschextract, welke in 10 dagen was vermeerderd van resp. 0.012 tot 0.190 en 0.009 tot 0.130 gewichtsprocenten.

Grage Mc Guire en George Falk (1919) geven in een volgend artikel een voortzetting van het bovenstaande. Ze trachten een limiet aan te geven van de hoeveelheid stikstof als NH_3 aanwezig in normaal vleesch. Bij dit onderzoek is hun gebleken, dat versch vleesch, direct na het slachten 0.03—0.10 mGr., van die N_2 per 1 Gr. bevatte. Bij bewaren van $15-20^{\circ}\text{C}$. wordt het vleesch „unfit” voor consumptie als de NH_3 stikstof per 1 Gr. vleesch bedraagt, 0.3—0.4 mGr. Beneden 0.3 mGr. kan het vleesch gerust voor de consumptie worden vrijgegeven. Bij sterk bedorven vleesch werden cijfers gevonden van 1—3 mGr. per 1 Gram.

Gorovitz, Vlassova en Gologorsky (1928) hebben ook een methode aangegeven om de hoeveelheid NH_3 bij bederf te bepalen. Ze koken een bepaalde hoeveelheid vleesch met 1% NaOH opl., doch hebben volgens hun eigen mededeelingen geen betrouwbare uitkomsten gekregen.

Glage heeft bij het bederf vluchtige zwavelverbindingen aangetoond door vleesch te koken en Pb. papier als indicator te gebruiken. Door de S. verbindingen wordt het haemoglobine veranderd in S. methaemoglobine, waardoor de onaangename kleur van bedorven vleesch zou ontstaan.

Scala en Bonamartini (1909) hebben getracht de oplossing te zoeken door reduceerende stoffen aan te toonen. *S. Binder* deed dit eveneens en gebruikte methyleenblauw, eveneens zonder resultaat.

b. Aantoonen van bederf langs bacteriologischen weg.

Reeds werd vermeld, dat aan de bepaling van het kiemgehalte van het vleesch bij de beoordeeling van de deugdelijkheid een voorname plaats werd ingeruimd. Niettegenstaande de uitvoerige chemische uiteenzettingen komen o.a. *Glage, Reil, Ottolenghi* tot de uitspraak, dat aan de bepaling van het kiemgehalte meer waarde moet worden toegekend. Doch niet alleen het aantal kiemen per Gr. vleesch aanwezig, ook de soort bacteriën speelt een rol. Bij het bederf komen zoowel aerobe als anaerobe bacteriën in aanmerking. Het proces wordt vermoedelijk door auto-enzymen ingeleid en door bacterie-enzymen voortgezet. *Tissier en Martelly* (1902) lieten goed vleesch bederven en isoleerden 13 soorten kiemen, nml. 8 aerobe en 5 anaerobe. Zij deelen deze naar hun werking in twee groepen. De eerste zet de koolhydraten en het eiwit om, en als de reactie alcalisch is geworden, begint de tweede groep de eiwitten en zijn derivaten verder aan te tasten.

Als aerobe kiemen treden op, de proteus en colibacillen, welke vooral aan de oppervlakte groeien, terwijl men van de anaerobe bacteriën kan noemen de *Bac. putrificus*, *fluorescens liquefaciens*, *putidus*, *subtilus*, *butyricus* e.a. Vermoedelijk zullen er echter weinig kiemen zijn, die niet door toevallige omstandigheden op vleesch gebracht, onder gunstige voorwaarden omzettingen, eiwitafbraak, etc. zouden kunnen veroorzaken.

Alhoewel men over het algemeen uitgaat bij de bepaling van het kiemgehalte, dat goed vleesch afkomstig van gezonde dieren kiemvrij is, ziet men even als reeds bij de rijping van vleesch naar voren is gebracht, nog veel de opvatting gehuldigd, dat vleesch reeds van den aanvang af kiemhoudend is. *C. Robert Moulton* (1930), Director van het Institute of American meat packers, die dus veel met het bewaren van dierlijke voedingsmiddelen te maken heeft, deelt in zijn boek: „Meat through the microscope” mede, dat het de staf van het Institute research van het Department of bacteriology van de University van Chicago gelukt was, kiemen, en nog

wel anaerobe kiemen in het spierweefsel van levende varkens aan te toonen. Hij trof ze niet alleen bij varkens, doch ook bij konijnen en Guineesche biggetjes aan. Hij geeft in genoemd boek zelfs een heel overzicht van de gevonden bacteriën in het bloed van normale levende dieren. In versch varkensvleesch zijn door hem in 100 % van de gevallen kiemen gevonden en wel bij 56 % uitsluitend anaerobe en bij 94 % aerobe en anaerobe kiemen. Hij schrijft het daaraan toe, dat varkensvleesch en vooral hammen zoo gauw in bederf overgaan, en het percentage hammen, dat moet worden vernietigd zoo groot is. *Mc Moran* van voornoemd instituut gelukte het uit de ingewanden van varkens een aantal proteolytische anaerobe kiemen te isoleeren, welke werden gedetermineerd als *Clostridium sporogenes*, die later werden teruggevonden in versch vleesch dicht bij been.

Behalve deze bevindingen, welke naar het oordeel van schrijver dezes ongetwijfeld moeten worden toegeschreven aan grove technische fouten bij het onderzoek, geeft hij eenige praktische mededeelingen, welke zeker het vermelden waard zijn.

Het optreden van bederf schrijft hij uitsluitend toe aan micro-organismen en de door hen geproduceerde enzymen en fermenten. Voor hun werking is toetreding van waterdamp en zuurstof noodzakelijk. Daar lucht voldoende waterdamp bevat en 20 % zuurstof bezit, zijn zij de voornaamste factoren van bederf. Komen er geen micro-organismen bij, dan treedt bederf niet of zeer langzaam op. Hij wijst er daarom zeer terecht op, dat bij het slachten de grootst mogelijke zindelijkheid betracht moet worden, opdat onnoodige bezoedeling en verontreiniging met bacteriën wordt voorkomen. Ook de bij het slachten te gebruiken tafels, gereedschappen en instrumenten moeten goed zindelijk en rein zijn. Hij toonde de bacterieele onreinheid van tafels o.a. aan door een steriel watje over de oppervlakte te strijken en dit bacteriologisch te onderzoeken. Verder heeft hij als directeur van een groote opslagplaats van vleesch de ervaring opgedaan, van welk groot belang het is, dat de voor verversching circuleerende

lucht goed is en dat daarom de meest mogelijke zorg moet worden besteed aan ventilatoren en dergelijke. Niettegenstaande de beste voorzorgsmaatregelen bedraagt het bederf van hammen gemiddeld 1 %, doch in slechte pakhuizen dikwijls wel 8—10 %.

Hij zegt, dat men vleesch minstens even goed moet behandelen als melk. Wordt bij de winning van melk de grootst mogelijke zindelijkheid betracht en wordt deze bewaard in helder en goed gereinigd liefst steriel vaatwerk, dan blijft ze veel langer houdbaar dan verontreinigde melk. Ditzelfde geldt ook voor vleesch, zoodat, wil men een goed houdbaar product verkrijgen, men zoowel bij het slachten als bij het transport en het bewaren de meest mogelijke zindelijkheid in acht moet nemen.

Uit het bovenstaande blijkt, dat men voor bederf verschillende kiemen kan aansprakelijk stellen, zoodat het aantoonen van een of meerdere soorten niet specifieke kiemen voor het constateeren van bederf geen zin heeft.

Door vele onderzoekers is daarom meer waarde gehecht aan het quantitatief bacteriologisch onderzoek om bederf vast te stellen. Zoo geeft *Ottolenghi* aan, dat men van bederf kan spreken, als er per 1 Gr. vleesch meer dan drie millioen kiemen aanwezig zijn.

Anderen geven als uiterste grens aan een kiemgehalte van slechts één millioen.

Door het stellen van een grens voor de toelaatbare hoeveelheid kiemen erkent men dat kiemhoudend vleesch, mits het niet specifieke bacteriën geldt, voor de consumenten ongevaarlijk is, zoodat men ook in dit opzicht een analogie met melk kan trekken. Rauwe melk kan eveneens veel of weinig kiemen bevatten, zonder dat men van bederf kan spreken. Men bestempelt melk echter dan pas als bedorven, als de daarin aanwezige bacteriën door hun werking omzettingen hebben teweeggebracht. Hetzelfde dient naar mijn meening voor vleesch te gelden, alhoewel het vanzelf spreekt,

dat sterk kiemhoudend vleesch veel sneller in bederf zal overgaan, dan vleesch, dat weinig kiemen bevat.

Uit het bovenstaande litteratuuroverzicht, dat niet op algeheele volledigheid aanspraak kan maken, blijkt echter wel voldoende, dat het noch langs chemischen, noch langs bacteriologischen weg gelukt is bederf en vooral beginnend bederf aan te toonen. Daarbij zijn over het algemeen de medegedeelde methoden te ingewikkeld en tijdroovend om voor de praktijk bruikbaar te zijn, zoodat ze het organoleptisch onderzoek niet hebben kunnen verdringen.

c. Waterstofionenconcentratie als indicator van bederf.

Het was mij bekend, dat vleesch bij het besterven een aangename zure lucht kreeg, terwijl bij bederf de reactie alcalisch werd. Dit bracht mij op het denkbeeld of ik in de reactie geen aanwijzing zou kunnen vinden om bederf en vooral beginnend bederf aan te toonen. Het bleek mij, dat de omslag der reactie door middel van lakmoespapier niet, of heel moeilijk was waar te nemen.

In plaats daarvan ging ik na of de concentratie der waterstofionen geen beter middel zou zijn. Ik heb om deze te bepalen gewerkt met vleeschextracten. (Fooy: „Een nieuwe methode om bederf van vleesch aan te toonen.”) Het vleeschextract werd bereid door ongeveer 2 Gr. vleesch af te wegen, het zoo fijn mogelijk te snijden en het daarna in een mortier met 20 cc. gedest. water af te wrijven. Uit een groot aantal onderzoekingen is toen gebleken, dat de pH van extracten van goed vleesch ongeveer 18 uur na de slachting ligt tusschen 6.1 en 6.4. Gemiddeld werd een pH gevonden van 6.2. Nagegaan werd verder, welke verandering de pH ondergaat door vleesch op verschillende wijzen te laten bederven. Hierbij is gebleken, dat in organoleptischen zin bedorven vleesch, van weeke, papperige consistentie met een onwelriekende lucht en groene verkleuring, een aanmerkelijke stijging van de pH vertoonde, zoo zelfs, dat dikwijls waarden werden gevonden van 7.5 en meer. Verder kwam bij die onder-

zoekingen vast te staan, dat de pH toenam alnaarmate meer bederf was waar te nemen. Voorts werd waargenomen, dat vleesch direct na het slachten onderzocht, dat dus nog slachtwarm is, een veel hogere pH vertoonde, nml. van gemiddeld 6.7 en dat deze pH ten gevolge van de vorming van melkzuur en andere zuren daarna duidelijk daalde. Na deze bepalingen kwam ik tot de conclusie, dat de pH van goed bestorven vleesch zelden ligt boven de 6.2 en stijgt als bederf begint in te treden, zoodat vleesch met een pH van 6.4 tot 6.5 reeds als bedorven moet worden beschouwd. De pH bepalingen werden langs colorimetrischen weg verricht.

Bij het verrichten van bovengemeld onderzoek en ook later bij het bestudeeren van de litteratuur is mij gebleken, dat reeds enkele, vóór en vele, na mij, zich met de bepaling van de waterstofionenconcentratie van vleesch hebben bezig gehouden, zoodat nu reeds verschillende publicaties over dit onderwerp zijn verschenen. Een der eersten, die onderzoekingen in die richting deed, was *Andrjevski* in 1927. Zijn doelstelling was echter een eenigszins andere. Hij heeft nml. getracht door middel van deze bepalingen een methode te vinden om vleesch, dat gevaarlijk is voor de consumptie te signaleeren. Hij legt het zwaartepunt op de bacteriënvermeerdering en wat daarmee samengaat. Hij merkt op, dat men na uitgebreide studie van de litteratuur over vleeschvergiftigingen wel tot de conclusie moet komen, dat er aan waarneming en onderzoek nog wel het een en ander mankeert. Een goed antwoord b.v. op de vraag of de oorzaken van verschillende vergiftigingen te wijten zijn aan consumptie van vleesch van zieke dieren of aan besmetting van vleesch of vleeschproducten bij hun bereiding of bewaring is in vele gevallen onopgelost gebleven. Dikwijls weet men niet of de vergiftigingen moeten worden toegeschreven aan specifieke bacteriën of aan vermeerdering van niet specifieke kiemen in het vleesch. Wat het eerste betreft, herinnert hij eraan, dat zeker niet alle vleeschvergiftigingen kunnen worden teruggebracht tot specifieke infecties door zieke dieren veroorzaakt.

Hij vestigt er voorts de aandacht op, dat zelden vleeschvergiftigingen worden veroorzaakt door versch vleesch, doch meer door toebereid vleesch als gehakt en hammen. Talrijke bacteriën uit de lucht, water etc. zijn voor den mensch als ze per os worden opgenomen, onschadelijk, doch kunnen volgens zijne mededeelingen na vermeerdering op vleesch, ernstige aandoeningen veroorzaken, welke klinisch overeenkomen met specifieke vergiftigingen. Ook heeft men nog niet geheel en al uitgemaakt, welke bacteriën eigenlijk voor vleeschvergiftigingen specifiek zijn. *Von Ostertag, Uhlenhuth, e.a.* huldigen het standpunt, dat bijna alle paratyphusstammen, welke bij de dieren ziekten te weeg brengen voor den mensch onschadelijk zijn en dat alleen enkele kiemen uit de engere groep van de enteritidis Gärtner moeten worden beschouwd als het specifieke ziektemakende agens. Voorts zegt A., dat ongeveer 16 % van de menschheid paratyphusdrager is, zoodat men mag aannemen, dat bij sterke digestiestoornissen of bij verzwakking van de defensieve kracht van het lichaam, hevige intoxicaties bij deze menschen kunnen worden veroorzaakt, terwijl men omgekeerd bij het vinden van paratyphusbacteriën in het vleesch en in de ontlasting van patiënten niet tot de uitspraak mag komen, dat het bewuste stuk vleesch inderdaad de schuld van de ziekte is.

Door hierop dieper in te gaan, ga ik de bedoeling van dit litteratuuroverzicht voorbij; uit deze mededeelingen komt duidelijk naar voren, dat *Andrjevski* bij vleeschvergiftigingen het zwaartepunt legt op de vermeerdering van niet specifieke kiemen. Het gevaarlijk karakter van vleesch afkomstig van „noodslachtingen” verklaart hij hierdoor, dat dergelijk vleesch niet voldoende besterft, doordat het niet voldoende zuur wordt en daardoor sneller tot bederf overgaat. De reactie van zulk vleesch blijft ongeveer neutraal en vormt zodoende een pracht voedingsbodem voor de meeste bacteriën. Doch niet alleen de bijna neutrale reactie is gunstig voor die vermeerdering, ook een hooge temperatuur, zoodat hij hiermede het feit wil verklaren, dat 's zomers meer vleeschvergiftigingen voorkomen,

dan in de koude jaargetijden. *Andrjevsky's* eindconclusie is dan ook, dat men in verband met onze tegenwoordige kennis het best doet de paratyphusbacteriën in het algemeen, welke zeer verbreid in de natuur voorkomen, te rekenen tot die kiemen, welke zich onder gunstige omstandigheden van reactie en temperatuur evenals andere kiemen (*coli-proteus*, etc.) snel in vleesch kunnen vermeerderen, waarbij thermostabiele producten worden afgescheiden, welke ziekte kunnen veroorzaken. *De verkoop van vleesch, dat op zulk een ongewone wijze besterft, dient uitsluitend onder toezicht in het klein te geschieden.*

Afgezien van zijn opvatting over het tot stand komen van vleeschvergiftigingen, welke al veel bestrijding heeft gevonden en ook naar mijn meening zeer aanvechtbaar is, heeft hij de groote verdienste, dat hij tot de eersten behoort, door wie op het groote belang is gewezen van goed en volledig besterven van vleesch.

Voor het aantoonen van bederf kwalificeert hij de Ebersche salmiakproef als onbetrouwbaar en de verschillende bacteriologische methoden ongeschikt voor de praktijk, alhoewel hij aan het bacterioscopisch onderzoek van op een voorwerpglas „zerquetsche” spierfibrillen wel eenige waarde toekent, evenals aan het bacterioscopisch onderzoek van waterige vleeschextracten. Over de waarden van verschillende chemische onderzoekingsmethoden spreekt hij niet. Methoden om met lakmoes de zuurgraad te bepalen zijn te grof, niettegenstaande het hem wel gelukte om in b.v. 10 c.c. extract na toevoeging van eenige druppels lakmoestinctuur een zwak zure of zwak alcalische reactie aan te toonen. Als middel om beginnend bederf te diagnostiseeren, deugt ze niet.

Andrjevsky heeft de pH eveneens bepaald van waterige vleeschextracten. Hij heeft gevonden, dat deze pH van extracten gemaakt van vleesch, direct of binnen een uur na het slachten, bedraagt 6.7—6.9. Na 16—20 uur zakt de pH bij gezonde dieren tot 6.0 en bij paardenvleesch soms nog lager, tot 5.7—5.8. Wordt het vleesch bij lage temperatuur bewaard,

dan treedt geen verandering op. Van vleesch door A. bij $8-15^{\circ}\text{C}$. gedurende 2—4 dagen bewaard begint de pH te stijgen, waarbij is geconstateerd, dat de grens van goed en bedorven vleesch ligt bij 6.5, zoodat vleesch met een pH van 6.6 als reeds bedorven kan worden beschouwd. Bij sterk ingetreden bederf constateerde A. wel een pH van 7.0—7.5. Een enkele maal heeft A. bij het besterven zeer lage pH waarden waargenomen van 5.3—5.5. Verder heeft A. geconstateerd, dat vleesch afkomstig van gezonde dieren, die door langdurig transport zeer sterk vermoeid waren een pH heeft van 6.7—6.8, welke na 24 uur niet of weinig daalde.

Volgens A. is daarom organoleptisch goed vleesch, doch met een pH van meer dan 6.5, afkomstig van sterk vermoeide of zieke slachtdieren. Behalve deze verschijnselen, welke ons mede helpen een beter inzicht te verkrijgen betreffende de omzettingen, die in vleesch post-mortem optreden, heeft hij ook nagegaan de physisch-chemische veranderingen, welke in de extracten plaats vinden. De kleur van het extract hangt af van den chromogeen- of haemoglobinetoestand, welke verandert onder invloed van talrijke chemische verbindingen. (CO_2 , H_2S e.a.) en ook door vermeerdering van microben. Men ziet duidelijk verschil tusschen het extract van goed en bedorven vleesch. Bij goed vleesch is dit roze-rood (volgens mijn waarneming meer als heldere bouillon met soms wat roode tint). Bij bedorven vleesch, is dit troebel en de intensiteit ervan afhankelijk van den graad van bederf. Het extract wordt daarbij ook ondoorzichtig. Volgens A. ontstaat het troebel worden niet alleen door de groote vermeerdering van het aantal kiemen, doch ook door het in suspensie komen van eiwitachtige stoffen bij verandering van de reactie naar den alcalischen kant. Hierdoor ontstaat ook een verschil in filtreerbaarheid. Helder extract filtreert veel gemakkelijker en sneller dan het troebel extract van bedorven vleesch. Het spreekt van zelf, dat de duur van de filtratie afhankelijk is van de hoedanigheid van het gebruikte filtreerpapier en van de maat en doorsnee van den trechter. A. heeft verder nog

nagegaan het Joodadsorbtievermogen van het extract, doch hecht daar zelf geen waarde aan.

Een parallel bestaat er tusschen de talrijke chemische veranderingen, welke zich in het spierweefsel afspelen en in die van het waterige extract. Tot slot onderzocht hij de in vleesch aanwezige enzymen en fermenten. Behalve de eigen enzymen reeds in het vleesch aanwezig, worden er bij bederf door de microben enzymen gevormd, welke de rotting te weeg brengen. Ook hieraan kent hij, even als enkele andere onderzoekers voor hem, geen waarde toe.

Ook de hoeveelheid Cl, Ca, S, P, Fe, en K. heeft hij onderzocht, evenwel zonder resultaat. Daarbij acht hij ook de methoden te omslachtig en voor niet chemisch gevormden minder geschikt.

Van alle methoden prefereert hij de bepaling van de concentratie van de H ionen en hij heeft hiermede de beste resultaten gekregen. Hij bereidde de extracten, door 7.5—10 Gr. vleesch in 20 tot 30 kleine stukjes te snijden, deze te doen in een fleschje met 75—100 c.c. gedestilleerd water en dit 10—15 minuten bij kamertemperatuur te laten staan. A. verrichtte zijn bepalingen uitsluitend langs colorimetrischen weg. Hij vermeldt niet welke kleurstoffen hij heeft gebruikt.

F. Grüttner (1929) heeft ook pH bepalingen verricht. Hij is eveneens tot ontdekking gekomen, dat deze bij rijping en bederf groote verschillen vertoonden, welke afhankelijk waren van uitwendige factoren als b.v. bewaren, doch ook van omstandigheden veroorzaakt door intravitale veranderingen van het dierlijk lichaam. In het artikel, dat een verslag is van een in 1929 te Keulen gehouden voordracht, deelt hij mede, dat het vleesch van gezonde dieren kiemvrij is, doch dat bij sterke vermoeidheid bacteriën uit den darm, den darmwand passeeren en in het vleesch terecht komen. Hij deelt mede, dat het vleesch vlak na den dood niet geheel kiemvrij zou zijn, doch wel eenige uren er na, waarmede hij aan het vleesch bactericide eigenschappen toekent. Het voornaamste bewijs voor de houdbaarheid van vleesch is het ontstaan van de

rijping. De licht aangename zure lucht en de hardere consistentie doen menig practicus tot de conclusie komen, dat het vleesch goed is bestorven. Hij heeft dit besterven tevergeefs trachten aan te toonen met lakmoes, doch volgens de methode *Andrjevsky* is het gemakkelijk te constateeren.

Aan de bepaling der waarde van vleesch afkomstig van zieke dieren hecht hij geen beteekenis. *Lenfeld* (1929) heeft eveneens de resultaten van pH bepalingen gepubliceerd. Hij begint met er op te wijzen, dat de postmortale veranderingen van vleesch gewoonlijk zoo weinig kenmerkend zijn, dat ze bij het organoleptische onderzoek niet juist beoordeeld kunnen worden. Als oriënterings-onderzoekingen beveelt hij aan de Ebersche proef, de beoordeeling van de helderheid en de kleur van het extract; aan de duur van het filtreeren hecht hij maar matige waarde. Ook hij vindt het voornaamste en het meest betrouwbare de bepaling van de pH.

In een later artikel bestrijdt hij de opvattingen van *Andrjevsky* over het tot stand komen van vleeschvergiftigen. *Lenfeld* heeft zich ook van de colorimetrische methode bediend.

Tot dezelfde conclusies komen *Herzner* en *Mann* (1927) die de bepalingen hebben verricht met den potentiometer. Ook *Hans Messner* (1928) heeft de bepalingen van *Andrjevsky* overgedaan en komt tot de conclusie, dat de bepaling van de pH ons uitsluitend houvast geeft om bederf en beginnend bederf aan te toonen. *Lukjanovitch* (1928) heeft eveneens electrometrische bepalingen verricht met ook goed resultaat, terwijl voorts van Russische zijde *F. Turandin* (1928) en *Muchlinsky* (1929) de methode kunnen aanbevelen. Van Fransche zijde zijn de bepalingen gedaan door *Camus* (1928). Hij heeft gevonden, dat de pH van rundvleesch, bij kamertemperatuur van 5—10° C. bewaard, de eerste uren daalt tot 5.6 en later weer stijgt en een pH kan bereiken van 6.0 en dan langen tijd op hetzelfde peil blijft. Stijgt de pH nog verder dan wordt het vleesch onbruikbaar.

Schmidt (1928), die zich ook met dit onderwerp heeft bezig gehouden, geeft aan, dat het vleesch met een pH

van 6.1—6.3 niet geheel en al meer versch is en men boven de 6.3 van bederf kan spreken. Tot slot kan nog in dit literatuuroverzicht vermeld worden de zoo juist verschenen mededeelingen van *G. A. Makarytscheff* (1930) uit het Instituut voor Kennis der Voedingsmiddelen van de Veeartsenijkundige Hoogeschool te Leningrad. *M.* heeft uitsluitend rundvleesch onderzocht en wel een groot aantal monsters vleesch direct van het slachthuis en een aantal monsters marktvleesch. Bij versch bestorven vleesch 24—26 uur na het slachten, heeft hij een pH gevonden van 6.1 of < 6.1 in 98 % van de gevallen en van 6.1—6.2 in de andere 2 % van de gevallen, zoodat men kan zeggen, dat bestorven vleesch in alle gevallen een pH < 6.2 heeft. Bij versch vleesch onderzocht direct of niet later dan een half uur na het slachten heeft hij een pH geconstateerd van 6.3—6.8 in 92 % van de gevallen en in 8 % een pH lager dan 6.2. Bedorven, ondoelmatig bewaard vleesch, heeft in 60 % een pH van 6.3—7.0 en in 40 % een pH < 6.2 . Hij zegt, dat de duur van het filtreeren van het extract afhankelijk is van verschillende moeilijk te elimineeren oorzaken, als verschillende eigenschappen van het filtreerpapier, wijze van bevochtigen enz. Dit alles maakt de waarde van de proef zeer relatief, en heeft daarom alleen beteekenis als grove oriënteringsproef. Hij hecht aan de bepaling van de pH langs colorimetrischen weg groote waarde, temeer daar deze eenvoudig in de practijk is toe te passen. Van de andere door *Andrjevski* aangegeven methoden zegt hij, dat het Joodadsorbtievermogen van geenerlei waarde is, terwijl de Ebersche proef bij erg bedorven vleesch, slechts in 48 % van de gevallen positief is.

HOOFDSTUK II

HET BEGRIP WATERSTOFIONEN- CONCENTRATIE (pH)

Alhoewel de bepaling van de concentratie van de waterstofionen slechts *middel* en geen *doel* is in dit proefschrift, mag volledigheidshalve een korte uiteenzetting over dit begrip en de methoden om deze te bepalen, hier niet ontbreken.

De reactie van een oplossing kan zijn zuur, alcalisch of neutraal en men kan deze bepalen door gebruik te maken van verschillende indicatoren als phenolphthaline, lakmoes etc. Over het algemeen spreekt men meer van zuurgraad en bepaalt deze door titratie met alcaliën van bekende sterkte. Men spreekt van een zuur of alcali van normale sterkte als per 1 liter water 1 Grammolecuul van het zuur of de alcali in oplossing aanwezig is. Deze zuurgraad noemt men de *titreerbare zuurgraad* of ook wel de *schijnbare zuurgraad*.

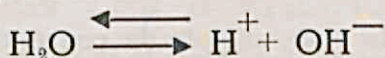
Het zuur zijn van een oplossing is uitsluitend afhankelijk van de hoeveelheid vrije H^+ of OH^- ionen in de oplossing aanwezig. Onder de *ware zuurgraad* bedoelt men nu de concentratie van deze H^+ ionen, kortweg aangeduid met de letters pH. Men ziet ook wel eens geschreven Ph of PH, doch de eerste schrijfwijze is de meest gangbare. Men bedoelt met deze letters de potentiaal van de H ionen.

De reactie van een oplossing definiëert men tegenwoordig door aan te geven hoe hoog deze pH is.

Daar de OH^- ionen de dragers zijn van de alcalische reactie, zou men ook kunnen spreken van pOH, wat echter niet gebruikelijk is.

Is de reactie van een vloeistof absoluut neutraal, dan moeten er evenveel H^+ ionen als OH^- ionen in de oplossing zijn. Dit zal men uitsluitend vinden in absoluut zuiver gedestilleerd water.

Water is een vloeistof, welke wordt gedissocieerd voor een zeer gering gedeelte in zijn H^+ en OH^- ionen en men kan dit als volgt voorstellen:



m.a.w. het H_2O molecuul valt uiteen in evenveel positief geladen H^+ ionen als negatief geladen OH^- ionen; doch omgekeerd vereenigen zich telkens weer evenveel H^+ ionen en OH^- ionen tot H_2O moleculen. De reactie is dus een evenwichtsreactie, zoodat de wet der massawerking toepasselijk is en we dus krijgen:

$$\frac{H^+ \times OH^-}{H_2O} = C_{H_2O}$$

Deze verhouding is een constante. Men spreekt van *Dissociatieconstante*, waarvoor *Kolthoff* den beteren naam aangeeft van *Ionisatieconstante*.

Bij kamertemperatuur is deze $C_{H_2O} = 10^{-14}$.

In absoluut neutraal water zijn dus evenveel H^+ als OH^- ionen aanwezig, dus van ieder tot een concentratie van 10^{-7} , d.i. één gedeeld door tien millioen gramatoom.

Bij neutrale reactie is dus:

$$H^+ = OH^- = 10^{-7}$$

$$H^+ = 10^{-7} \quad \text{of}$$

$$H^+ = \frac{1}{10^7} \quad \text{of}$$

$$\frac{1}{H^+} = 10^7 \quad \text{of}$$

$$\log. \frac{1}{H^+} = 7$$

De $\log. \frac{1}{H^+}$ kan men ook schrijven $\log. H^{-1}$ of $-\text{Log.} H$. Omdat men prefereert met positieve getallen te werken en dit in de praktijk veel gemakkelijker is, verstaat men dus onder de *pH*: de negatieve logarithme van de concentratie der *H* ionen.

Bij volmaakt neutrale oplossingen is deze 7. Hetzelfde geldt natuurlijk voor de OH^- ionen.

Wordt de reactie zuur, dan is de concentratie der *H* ionen $> 10^{-7}$ en dus de *pH* < 7 .

Wordt de reactie alcalisch, dan is de concentratie der *H* ionen $< 10^{-7}$ en de *pH* > 7 .

Met een pH kleiner dan 7 wordt dus aangeduid, dat de reactie zuur is, met een pH groter dan 7, dat ze alcalisch is.

HOOFDSTUK III

METHODEN TER BEPALING VAN DE WATERSTOFIONENCONCENTRATIE

Men kent 2 methoden om de pH te bepalen, en wel

1. de *electrometrische* of *potentiometrische* bepaling en de
2. *colorimetrische* bepaling.

Beide methoden zijn bij mijn eigen onderzoekingen over de pH van vleesch in dit proefschrift toegepast.

Alhoewel ik mij hoofdzakelijk heb bepaald tot de colorimetrische in verband met het feit, dat het mijn bedoeling is geweest een eenvoudige, voor de praktijk geschikte methode aan te geven, om de post-mortale veranderingen van vleesch te kunnen aanduiden, zijn ook daarnaast ter controle van de eerste door mij vele potentiometrische bepalingen verricht.

§ 1. De *potentiometrische* bepalingen van de waterstofionconcentraties zijn gedaan met behulp van de waterstofelectrode, beschreven door *Dr. I. M. Kolthoff* (Mariusbibliotheek No. III), zooals dit toestel later is gecompleteerd door *Prof. van Oyen*.

In het kort en volledigheidshalve volgt hier een beschrijving van het principe en het toestel. Het principe berust op het feit, dat indien men een electrode dompelt in een oplossing, welke ionen bevat die de electrode kan leveren er tusschen die electrode en de vloeistof een bepaald potentiaal verschil optreedt.

De formule van *Nernst* geeft de factoren aan, waarvan dit potentiaal verschil afhankelijk is.

$$E = \frac{R}{n_e} \frac{T}{F} \ln \frac{P}{\bar{P}}$$

In deze formule stelt voor:

E = het potentiaal verschil.

R = gasconstante.

T = absolute temperatuur.

n_e = de waardigheid der ionen (voor $H = 1$).

F = Faraday (het aantal Coulomb, dat noodig is 1 gram-
aequivalent van een ion af te scheiden = 96540 coulomb).

$\ln$ = de natuurlijke logarithme.

P = de electrolytische oplossingsdruk.

p = de osmotische druk der ionen.

Het zou te ver voeren, hierop dieper in te gaan, alleen
zij medegedeeld, dat door voor $\frac{R}{F}$ de bekende waarde in te
voeren en $\ln$ om te rekenen tot $\log. 10$, de formule wordt

$$E = \frac{0.0001983}{n_e} T \log. 10 \frac{P}{p}$$

bij 18° C. is $T = 273 + 18 = 291$, dus

$$E = \frac{0.05771}{n_e} \log. 10 \frac{P}{p}$$

De formule is daardoor veel eenvoudiger geworden.

Het verband tusschen E en P en p is wel te zien. E is
recht evenredig met P , den oplossingsdruk, welken het ion
tracht in oplossing te zenden, en omgekeerd evenredig met
 p , den osmotischen druk, welken dit in oplossing zenden tracht
te verhinderen. De osmotische druk is op zijn beurt weer
afhankelijk van de concentratie (c) en daarmee recht even-
redig.

Heeft men dus een concentratie keten van de volgende
samenstelling: metaal — metaalzoutopl. (concentratie c_1) — ver-
bindingsvloeistof — metaalzoutopl. (concentratie c_2) — metaal,
dan zal, niettegenstaande de polen van dit element hetzelfde
metaal hebben, een bepaalde electromotorische kracht ontstaan,
welke bedraagt:

$$E = \frac{0.05771}{n_e} \log. \frac{P}{p_1} - \frac{0.05771}{n_e} \log. \frac{P}{p_2} \text{ of}$$

$$E = \frac{0.05771}{n_e} \log. \frac{p_2}{p_1} \text{ of } \frac{0.05771}{n_e} \log. \frac{c_2}{c_1}$$

(de weerstand van de verbindingsvloeistof en draad wordt hierbij verwaarloosd).

De E.M.K. (electromotorische kracht E) van een keten is dus niet afhankelijk van den electrolytischen oplossingsdruk, doch slechts afhankelijk van de ionenconcentratie of den osmotischen druk der oplossingen.

Stel men heeft een concentratieketen als volgt:

Ag. — 0.01 N. Ag NO₃ — verbindingsvloeistof, — 0.001 N. AgNO₃ — Ag., dan is de E.M.K. gelijk aan een concentratieketen van b.v.:

H₂ — 0.01 N HCl. — verbindingsvloeistof — 0.001 N.HCl.
— H₂,

waar het metaal Ag. is vervangen door een H electrode en de zilveroplossing door zoutzuur van dezelfde concentraties.

Is nu een der H elektroden gedompeld in een oplossing, waarvan de concentratie normaal is, b.v. 1 N HCl. en de andere met een concentratie b.v. c, dan is:

$$E = 0.05771 \log. \frac{1}{c} \text{ of}$$

$$E = - 0.05771 \log. c.$$

Zooals we reeds in hoofdstuk II hebben gezien is de pH = de negatieve logarithme van de concentratie der H ionen (hier — log c), dus dan is:

$$E = 0.05771 \times \text{pH} \text{ of}$$

$$\text{pH} = \frac{E}{0.05771}$$

De concentratie der H ionen (ook wel waterstofexponent genoemd) van een vloeistof kan men dus bepalen als men

een waterstofelectrode in die vloeistof dompelt en deze verbindt met een vloeistof welke N(ormaal) is aan H ionen en waarin ook een waterstofelectrode gedompeld is (normaal H electrode).

Van deze keten meet men nu de E en met behulp van bovenstaande formule kan men dan de pH berekenen.

In plaats van de waterstofelectrode, gedompeld in de N. oplossing, gebruikt men om technische redenen liever een normaal electrode, waarvan de potentiaal en de temperatuurs-coëfficiënt precies bekend moeten zijn.

Hiervoor wordt gebruikt de *normaal-kalomelelectrode*, welke men met weinig moeite zelf kan vervaardigen en waarvan de E.M.K. bij 18° C. $E = 0.560$ volt, en de temperatuurs-coëfficiënt zeer gering is.

Verbindt men deze normaalelectrode met een normaal H electrode dan vindt men de E.M.K. van dit aldus samengestelde element op 0.283 volt.

Hieruit volgt dat de E.M.K. van de normaal H electrode (E_1) bedraagt:

$$E_1 = 0.560 - 0.283 = 0.277 \text{ volt.}$$

Verbindt men dezelfde kalomelelectrode met een willekeurige H electrode, gedompeld in de te onderzoeken vloeistof, met een E.M.K. (E_3), dan vindt men in het aldus ontstane element een E.M.K. (E_2): $E_2 = 0.560 - E_3$ of

$$E_3 = 0.560 - E_2$$

Verbindt men tenslotte de normale H electrode met deze willekeurige H electrode, dan krijgt men een element met een E.M.K.

$$E = E_1 - E_3$$

$$\text{of} \quad E = 0.277 - (0.560 - E_2)$$

$$\text{en daar } pH = \frac{E}{0.05771}$$

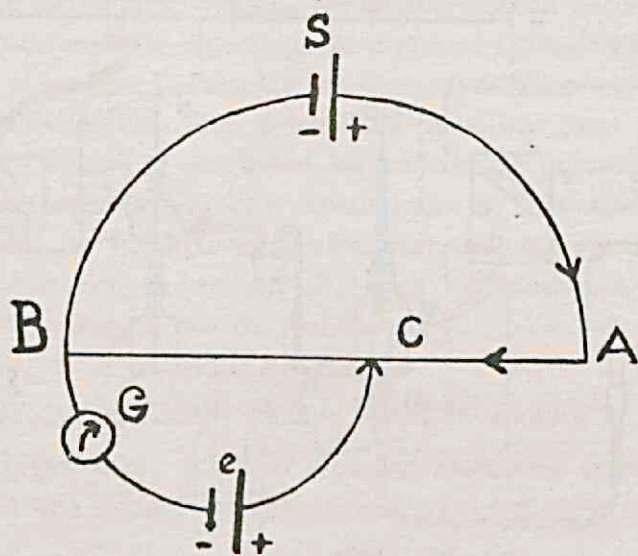
$$pH = \frac{0.277 - (0.560 - E_2)}{0.05771}$$

of anders geschreven

$$pH = \frac{E_2 - 0.283}{0.05771}$$

De E_2 dient men dus te bepalen om de pH te kunnen berekenen.

Voor het meten van de E.M.K. van een element maakt men in het algemeen gebruik van de compensatie-methode *Poggendorff—du Bois—Reymond*. Het principe berust op het volgende schema (fig. 1).



Figuur 1.

S. is het stroomleverend element, waarvan de E.M.K. grooter moet zijn dan die in de te meten zijketen e. De stroom in de hoofdketen wordt door den weerstand AB gesloten. De te meten keten e is door een nulpunts instrument (G is een galvanometer) met B verbonden. C is een glijdcontact, dat langs A—B kan worden bewogen, zoolang, tot G aanwijst, dat de zijketen stroomloos is.

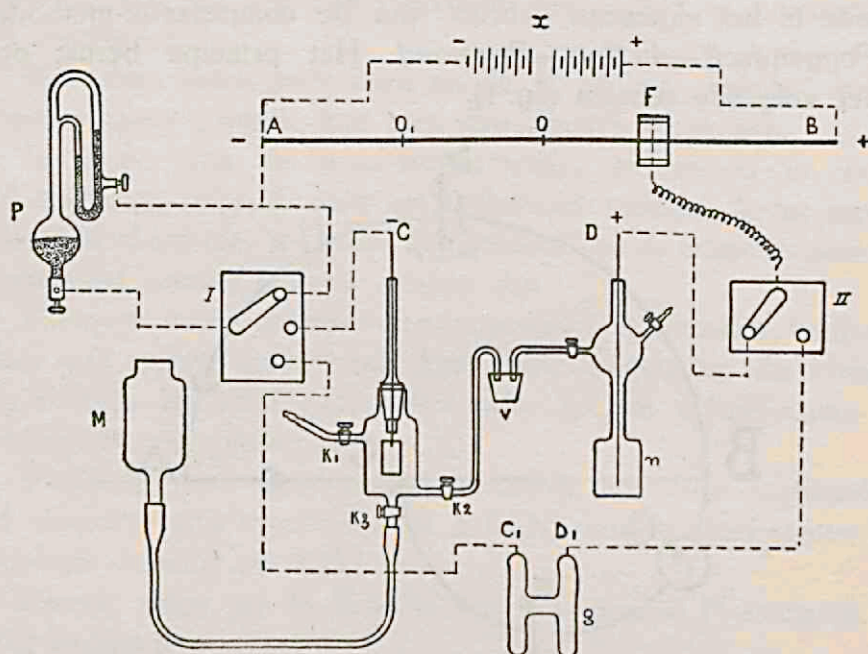
Verondersteld wordt, dat S A en S B een te verwaarlozen weerstand hebben.

De stroomrichting van de zijketen moet natuurlijk tegengesteld gericht zijn aan de oorspronkelijke stroom door S geleverd.

Noemt men het spanningsverschil tusschen A en B, E volt en de E.M.K. van het te onderzoeken element e, dan is

$$e = \frac{BC}{AB} \times E \text{ volt.}$$

De bepaling van de E.M.K. E_2 geschiedt op dezelfde manier, zooals men in het onderstaande schema (fig 2) ziet.



Figuur 2.

Als stroombron fungeert de accumulator x , waarvan de E.M.K. veel grooter moet zijn, dan men in de zijketen, waarin zich de H electrode met de te onderzoeken vloeistof bevindt, kan verwachten.

De $+$ pool van den accumulator x is verbonden met B , de $-$ pool met punt A van de meetdraad AB . A is dus sterker negatief dan C (of C_1) en B sterker positief dan D (of D_1). Het is dus onmogelijk, dat er een stroom gaat van A naar C , doch wel omgekeerd.

Plaast men nu in de zijketen een „normaal element” (g), waarvan de stroomrichting tegengesteld is aan die van de accu en zet men de schakelaars I en II zoodanig, dat dit element met meetdraadgedeelte en capillair electrometer G een keten vormt, dan kan men door langs het glijdcontact het relais F te verschuiven het punt O vinden, waarbij de zijketen stroom-

loos is, zoodat tusschen de punten A en O een zelfde potentiaal verschil bestaat als tusschen C_1 en D_1 . De E.M.K., voortvloeiende uit het potentiaal tusschen A en O is dan gelijk aan die van het element g.

Door omschakelen van de schakelaar (II), kan men de andere keten inschakelen, bestaande uit een normaal kalomel-electrode (n) — verbindingsvat met verbindingsvloeistof (v) — de H electrode, bevattende de te onderzoeken vloeistof. Door verschuiven van het relais kan men het punt O_1 bepalen, waarbij de ook in die keten ingeschakelde galvanometer geen uitslag meer geeft, dus stroomloos is. Het zal nu duidelijk zijn, dat de E.M.K. voortvloeiende uit het potentiaal verschil tusschen A en O_1 (E_2) zich verhoudt tot die van het normaal element als de afstanden:

$$\begin{aligned} AO : AO_1 & \text{ dus,} \\ AO_1 : AO & = E_2 : E \text{ (normaal).} \end{aligned}$$

Het gebruikte normaal element waarvoor door mij is gezegd een normaal Westonelement, heeft een bekende

$$\begin{aligned} E & = 1.088 \text{ volt, dus} \\ AO_1 : AO & = E_2 : 1.0188 \\ \text{of } E_2 & = \frac{AO_1 \times 1.0188}{AO} \end{aligned}$$

We hebben verder gevonden, dat

$$pH = \frac{E_2 - 0.283}{0.05771}$$

dus kunnen we schrijven:

$$pH = \frac{\frac{AO_1 \times 1.0188}{AO} - 0.283}{0.05771}$$

Het bezwaar van deze meting is, dat bij iedere waarneming deze omslachtige berekening moet worden gemaakt, hetgeen veel tijdverlies geeft.

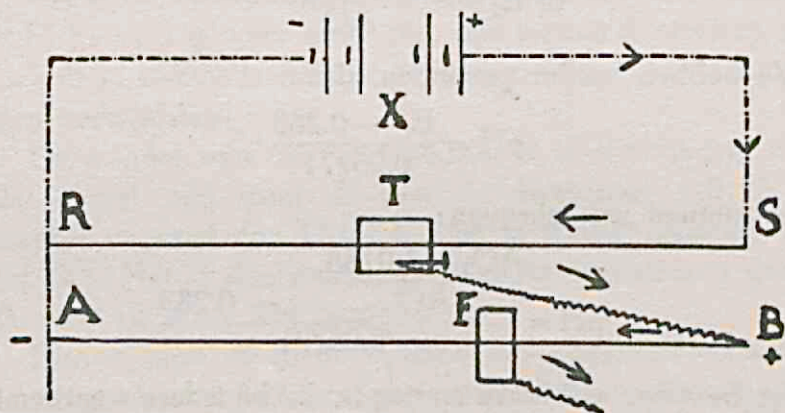
Door *Prof van Oyen* is hierin een groote vereenvoudiging gebracht (zie Microbiologische onderzoeken, „Tijdschrift

voor Vergelijkende Geneeskunde", enz. Deel IX, afl. 4). In bovenstaande formules komen twee variabele grootheden voor, nml. AO , de afstand van A tot het nulpunt bij inschakelen van accu tegenover het Weston normaal element, en AO_1 , de afstand van A tot het nulpunt bij inschakeling van accu met „gasketen”. De wisselingen van deze laatste grootheid zijn een gevolg van de wisselingen in het potentiaal verschil tusschen de H electrode en de normaal kalomelelectrode, wanneer de eerste in verschillende te onderzoeken vloeistoffen wordt gedompeld.

De veranderingen in de afstand AO zijn een gevolg van de wisselende stroomsterkte van de accu. Deze zijn van tal van factoren afhankelijk en zeer onregelmatig.

Kan men nu echter door bepaalde voorzorgen het potentiaal verschil tusschen A en B willekeurig instellen op een constante waarde, dan zal bij gebruik van een zelfde normaal element in achtereenvolgende bepalingen de afstand AO constant blijven.

Een eenvoudig middel heeft *Van Oyen* gevonden door een tweede draadweerstand SR boven de meetdraad AB in te schakelen, volgens onderstaand schema (fig. 3).



Figuur 3.

SR bevat een glijdcontact T . Door dit te verschuiven kan men een zoodanig gedeelte der E.M.K. van de accu be-

nuten, dat het relais F bij inschakelen van het normaal element in de zijketen en bij stroomloosheid in die keten op de plaats O blijft staan.

Bij gebruik b.v. van een accu bestaande uit 2 cellen, (spanning ± 4 volt), terwijl F op 50 cM. afstand van A wordt ingesteld, zal T bij stroomloosheid in de genoemde zijketen ongeveer midden tusschen S en R komen te staan.

Men kan nu in de bovengenoemde formule van AO de waarde 50 invullen, zoodat de formule wordt

$$\text{pH} = \frac{\text{AO}_1 \times 1.0188}{50} - 0.283 \quad \text{of}$$

$$\text{pH} = 0.3531 \times \text{AO}_1 - 4.904$$

De pH waarde bij verschillende waargenomen afstanden AO_1 kan men gemakkelijk in onderstaande tabel aflezen.

ZUIUR				ALCALISCH			
AO_1	pH	AO_1	pH	AO_1	pH	AO_1	pH
20	2.185	27	4.629	34	7.101	41	9.573
20.5	2.334	27.5	4.806	34.5	7.277	41.5	9.749
21	2.511	28	4.982	35	7.454	42	9.926
21.5	2.687	28.5	5.159	35.5	7.630	42.5	10.102
22	2.864	29	5.335	36	7.807	43	10.279
22.5	3.040	29.5	5.512	36.5	7.983	43.5	10.455
23	3.217	30	5.689	37	8.160	44	10.632
23.5	3.493	30.5	5.865	37.5	8.336	44.5	10.809
24	3.570	31	6.042	38	8.513	45	10.985
24.5	3.746	31.5	6.218	38.5	8.689	45.5	11.162
25	3.923	32	6.395	39	8.866	46	11.338
25.5	4.099	32.5	6.571	39.5	9.043	46.5	11.515
26	4.276	33	6.748	40	9.220	47	11.691
26.5	4.453	33.5	6.924	40.5	9.396	47.5	11.868

Is men met het principe wat vertrouwd geraakt, dan wijst het schema ons al vrij gemakkelijk den weg.

Als stroomleverend element (S) is gebruikt een gewone

2 cellige accu (x). Het nadeel is, dat de E.M.K. hiervan nog al eens sterk wisselt, zoodat men het relais T herhaaldelijk moet verplaatsen bij het afstemmen tegenover het normaal element. Na de meting moet men de E.M.K. van de accu wederom bepalen en deze moet gelijk zijn met die voor de meting.

Verder heeft men noodig 2 weerstanden van 1 M. met 2 relais; de weerstand van AB moet voorzien zijn van een verdeellat.

De + pool van de accu verbindt men met punt S, de — pool met punt R, verder relais T met punt B en R met A, zooals het schema duidelijk aangeeft. Het verdient aanbeveling een eenvoudige schakelaar te plaatsen in de hoofdketen, zoodat men de accu direct kan afsluiten, b.v. tusschen x en S (niet op schema aangegeven). Verder brengt men aan een schakelaar (II) en een sleutel (I). Door middel van de eerste kan men de stroom sturen door het normaal element of door de gasketen.

Met de sleutel kan men de stroom leiden door den galvanometer en het nulpunt -stroomloosheid- bepalen.

Als normaal element is gebruikt een Weston element, welke goed heeft voldaan.

Kolthoff en ook *Ostwald* en *Luther* in *Physiko-chemische Messungen* (1909) bevelen aan het gebruik van een Cadmium normaal element, dat men eveneens zelf eenvoudig kan maken.

Als nulpuntsinstrument is gebruikt de capillair-electrometer in den gesloten vorm door *Lippmann* aangegeven (zie p. fig. 2). Het toestel is gedeeltelijk met kwik en zwavelzuur gevuld, terwijl men met een kleine microscoop uitslagen van de kwik-meniscus in het capillair kan aflezen.

Als normaal electrode is, zooals reeds is medegedeeld, de normaal kalomel electrode gebruikt, welke bij 18° C. een E.M.K. van 0.560 volt geeft. Het in schema aangegeven model n is door *Prof. Ringer* aangegeven.

Men kan het toestel gemakkelijk zelf vullen. Men heeft noodig een innig mengsel van kwik en kalomel. Dit kan men

electrolytisch maken, doch men kan ook uitgaan van de zuivere componenten. Men wrijft een kleine hoeveelheid kwik onder het kalomel dood, zoodat een grauw poederig mengsel ontstaat, waarin men zoo goed als geen kwikbolletjes meer ziet. Dit mengsel wast men eenige malen met een N. oplossing van KCl., waarna men de kwik-kalomelbrij zich laat afzetten. Dan brengt men op den bodem van de electrode een laag zuiver kwik, dat met N KCl. oplossing is gewasschen. Hierop giet men de brij van kwik en kalomel en verder vult men aan met I N KCl. oplossing. Door de ingeslepen stop van het vat gaat een capillair tot een weinig boven den bodem. Onder aan de capillair is een stukje platina ingesmolten, dat contact maakt tusschen de kwik-kalomellaag en het kwik, waarmede de capillair gedeeltelijk gevuld is. Verder steekt er van boven een koperen draad in. Deze electrode is direct na de vulling te gebruiken.

Het tweede belangrijke bestanddeel van de „gasketen” is de H electrode. Verzadigt men een geplatineerde electrode met waterstofgas, dan gedraagt zij zich alsof ze uit metallische waterstof bestaat.

Voor het platineeren van deze electrode zijn door *Kolthoff* goede methoden aangegeven. Het verdient m.i. aanbeveling dit door een deskundige te laten doen.

De electrode steekt in een vat van den op het schema aangegeven vorm. De stop, waardoor de koperdraad, welke de electrode verbindt, loopt, moet goed en vast op den mond van het vat sluiten. Ook de kranen moeten goed sluitend zijn en gemakkelijk open en dicht zijn te draaien. Een goed passende stop en absoluut sluitende kranen zijn de eerste voorwaarden voor het doen van goede metingen. Naar mijn ervaring is het dit gedeelte van het toestel, dat de meeste moeilijkheden geeft.

De verzadiging der platina electrode met waterstof geschiedt door een Kipp-apparaat. De waterstof wordt gereinigd met permanganas-kalicus opl., zilvernitraatopl. en aqua dest. De zich

in het vat v bevindende verbindingsvloeistof bestaat uit verzadigde KCl. opl.

Men verricht nu de bepaling als volgt:

Men zet het glijdcontact F op $AO = 50$, opent den stroom van de accu en schakelt het normaal element door middel van den omschakelaar (II) in de zijketen. Door verschuiven van het relais T brengt men stroomloosheid tot stand, hetgeen men waarneemt met den capillair-electrometer, welke men door middel van den sleutel (I) in en uit kan schakelen. Beweegt de kwik-meniscus in het capillair zich nóch naar boven nóch naar beneden, dan is het nulpunt bereikt.

Men schakelt nu de normaal electrode uit en schakelt de gasketen in en door verplaatsen van relais F , wordt de afstand AO_1 gemeten, als wederom stroomloosheid in den zijketen is opgetreden. Hierbij moet bij een goede meting de afstand AO_1 constant blijven. Men zet F nu weder op 50 en schakelt nu weer het normaal element in de zijketen. Is deze stroomloos gebleven, dan behoeft men T niet meer te verplaatsen, en heeft men zekerheid, dat de E.M.K. van de accu zich gedurende de proef niet heeft gewijzigd.

De H-electrode biedt bij de meting de grootste moeilijkheden. Eerste voorwaarde voor goede bepalingen is dan ook, dat aan dit gedeelte van het toestel de meest mogelijke zorg wordt besteed. De stop van de platina electrode wordt voldoende ingevet zoodat het vat hermetisch is gesloten.

De te onderzoeken vloeistof wordt gegoten in het reservoir M , welk reservoir door een gummislang met het vat is verbonden. Houdt men het reservoir hoog en opent men de kraan K_3 , daarna K_2 en K_1 dan kan het vat zich vullen, terwijl de lucht door deze vloeistof overal verdreven wordt. Men inspecteert nauwkeurig of er geen luchtbelletjes in de kranen en onder de stop aanwezig blijven en draagt er zorg voor, dat de verlengstukken bij K_1 en K_2 zich geheel met

vloeistof vullen. Daarna sluit men de beide kranen, en plaatst het reservoir M lager en verbindt K_1 met het Kipp-toestel, waarna men K_1 opent. De vloeistof wordt verdrongen door de instroomende waterstof en men sluit K_1 weer, wanneer het vloeistof-niveau tot de helft van de platina electrode is gezakt. Men verhoogt het vat M nu weer, blaast er wat op, zoodat in de H electrode wat overdruk ontstaat en sluit K_3 . De electrode wordt dan voorzichtig omgezwinkt (100 maal), zoodat de waterstof zich goed met de vloeistof mengt. Daarna plaatst men de electrode in de verbindingsvloeistof, zooals het schema aangeeft, brengt de elektrische verbinding tot stand en opent K_2 . Bij dit openen moeten door den aanwezigen overdruk eenige druppels vloeistof in v overgaan, ten bewijze dat het toestel nergens „lekte” en er dus geen zuurstof uit de lucht is ingedrongen. Men meet AO_1 zooals reeds is aangegeven. Het is gewenscht de metingen in duplo te verrichten. Krijgt men verschillende uitkomsten, dan is de bepaling niet betrouwbaar. Ziet men dat gedurende de bepaling AO_1 telkens gering toeneemt, dan moet de fout gezocht worden in het niet of onvoldoende sluiten van stop of kranen.

Het werken met het door mij gebruikte apparaat eischt eenige routine. Heeft men die eenmaal, dan nemen de bepalingen niet veel tijd in beslag. Is het toestel buiten gebruik, dan bewaart men de geplatineerde electrode in zuiver gedestilleerd water.

Het geheele toestel dient gecontroleerd te worden alvorens men het in gebruik stelt.

Kolthoff geeft hiervoor eenige oplossingen aan, waarvan de pH bekend is o.a.:

0.1 mol.	kalium biphthalaat	pH = 4.01
30 c.c.	$\frac{1}{20}$ mol. borax	„ = 8.08
30 „	$\frac{1}{5}$ „ borax	
50 „	$\frac{1}{5}$ „ boorzuur	„ = 10.00
43.9 „	$\frac{1}{5}$ „ Na OH	

Ik gebruikte echter voor de contrôle de fosfaatmengsels van Sörensen, bestaande uit een oplossing bevattende 11.876 gr. natrium-phosfaat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) per liter en 9.078 gr. kaliumphosfaat (KH_2PH_4) per liter gedest. water.

Mengt men beide oplossingen in een verhouding van 6 tot 4, dan krijgt men een fosfaat-mengsel, waarvan de pH ongeveer 7 (6.979) is.

§ 2. De colorimetriscbe methode.

Op de potentiometrische bepaling berustend, doch veel eenvoudiger en goedkooper in haar toepassing voor de praktijk, is de colorimetriscbe.

Bij deze bepalingen gebruikt men indicatoren, kleurstoffen, waarvan de kleur afhankelijk is en verandert met de waterstofionconcentratie van de oplossingen, waarbij men ze voegt.

Voor iedere indicator bestaat een karakteristieke pH zône, welke zône betrekkelijk nauw is.

Zeër vele kleurstoffen zijn in den laatsten tijd bekend gemaakt, welke geschikt zijn voor pH bepalingen.

In het bekende boek van *W. Mansfield Clark: The Determination of Hydrogen Ions* (1922), vindt men er al een 160-tal vermeld.

Verschillende indicatoren zijn in den handel verkrijgbaar, veelal in „bestekken” kleurstoffen bevattend, aangevende verschillende zônes, gezamenlijk loopend van pH 1.2 — pH 9.8.

Bij de door mij in Soerabaia verrichte onderzoeken heb ik uitsluitend gebruikt een doos bevattend een 9-tal kleurstoffen in poedervorm, behoorende tot „Clark and Lubs list of indicators”.

Deze kleurstoffen zijn (gewone naam en niet de chemische naam).

Thymolblauw	pH van 1.2—2.8
Broomphenolblauw	„ „ 3.0—4.6
Methylrood	„ „ 4.4—6.0

Broomcresolpurper	. .	pH van 5.2—6.8
Broomthymolblauw	. .	„ „ 6.0—7.6
Phenolrood		„ „ 6.6—8.2
Kresolrood		„ „ 7.2—8.8
Thymolblauw		„ „ 8.0—9.6
Cresolphtalein		„ „ 8.2—9.8

Voor mijn doel heb ik alleen noodig gehad de kleurstoffen broomthymolblauw (B.T.B.) en phenolrood (P.R.).

Men kan deze kleurstoffen goed bewaren als men 100 m.g. van het droge poeder oplost in eenige c.c. $\frac{1}{20}$ N. NaOH. (voor broomthymolblauw 3.2 c.c. en phenolrood 5.7 c.c.) en daarna tot 25 c.c. aanvult met gedest. water. Deze oplossingen kan men zelfs in de tropen lang goed houden. Voor het gebruik worden deze oplossingen met aqua dest. verdund, met een 10- of 20-voudige hoeveelheid water, zoodat men gebruikt oplossingen van 0.02 en 0.04 $\frac{0}{0}$. In iedere doos, doch ook in het bovengenoemde boek van Clark vindt men een uitvoerige gebruiksaanwijzing. Bij 10 c.c. van de te onderzoeken vloeistof worden 5 of 10 druppels verdunde indicator-vloeistof toegevoegd. De kleur die daarbij ontstaat, kan men vergelijken met de kleur van standaardoplossingen, waarvan de pH bekend is. Bij gebruik van broomthymolblauw wordt deze kleur geel bij een pH van 6.0 of < 6.0 en blauw bij een pH van 7.6 of > 7.6 en van phenolrood geel bij een pH van 6.6 of < 6.6 en rood bij pH 8.2 of > 8.2 . Bij tusschenliggende pH's ziet men tusschenliggende tinten. Voor de te onderzoeken vloeistof, waaraan indicator is toegevoegd, zoekt men nu de bijpassende tint en leest dan daarop de pH af. De standaard-oplossingen met bekende pH waarden kan men zelf bereiden. Verschillende zuren, alcaliën en zouten worden daarvoor aangegeven en gebezigd.

Evenals voor de contrôle van den potentiometer heb ik hier wederom de Sörensche fosphaatmengels gebruikt, omdat zij gemakkelijk te bereiden zijn. (Zie § 1.)

Clark geeft in zijn boek de pH waarden van de volgende mengsels:

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	KH_2SO_4	pH
$\frac{1}{15}$ normaal	$\frac{1}{15}$ normaal	
0.25 c.c. + 9.75 c.c.		5.288 (5.3)
0.50 „ + 9.50 „		5.589 (5.6)
1.00 „ + 9.00 „		5.906 (5.9)
2.00 „ + 8.00 „		6.239 (6.2)
3.00 „ + 7.00 „		6.468 (6.5)
4.00 „ + 6.00 „		6.643 (6.6)
5.00 „ + 5.00 „		6.813 (6.8)
6.00 „ + 4.00 „		6.979 (7.—)
7.00 „ + 3.00 „		7.168 (7.2)
8.00 „ + 2.00 „		7.383 (7.4)
9.00 „ + 1.00 „		7.731 (7.7)
9.50 „ + 0.50 „		8.043 (8.—)

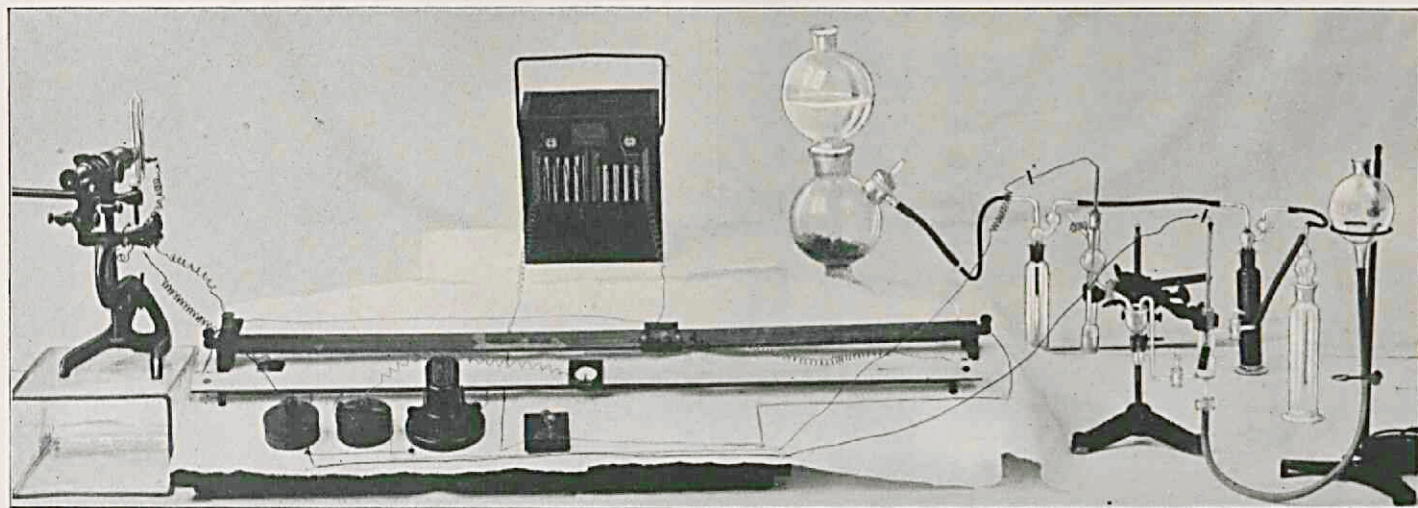
Doet men in gelijke reageerbuisjes 10 c.c. van bovenstaande mengsels en 10 druppels indicator, dan krijgt men een reeks standaard-oplossingen van bekende pH. Sluit men de buisjes af met een gummistop en wat paraffine, dan kan men ze, mits bewaard op een koude donkere plaats, lang goed houden.

Is het niet noodzakelijk nauwkeurige bepalingen te verrichten dan kan men ook gebruik maken van een „chart, showing the colors of Clark and Lubs indicators and solutions of known pH.

De kaart is goed bruikbaar als de te onderzoeken vloeistoffen helder en goed doorzichtig zijn.

Zijn ze dit niet, doch van zich zelf reeds licht gekleurd, wat bij het onderzoeken van de waterige vleeschextracten het geval is, dan moet men ter vergelijking de standaard-oplossingen gebruiken, terwijl het dan tevens aanbeveling verdient te werken met den comparator van Walpole (zie foto).

Deze bestaat uit een blok hout met een 6-tal paarsgewijze gaten, waarin buisjes passen van dezelfde dikte en doorsnede.



In het middelste paar doet men de te onderzoeken vloeistof met de indicator en daarachter een buisje met water. In de beide andere gaten plaatst men buisjes met de te onderzoeken vloeistof zonder indicator en daarachter de standaardoplossingen met bekende pH.

Aan de voorzijde van het blok is een opening en de achterzijde wordt gevormd door matglas. Men kan er ook een blauw glas in plaatsen. Men kijkt naar het licht en zoekt zoo lang tot men de overeenkomstige kleur verkrijgt met het middelste paar buisjes, zoodat men dan de pH kan aflezen.

Bij mijn bepalingen te Utrecht heb ik vrijwel uitsluitend gemaakt van de *methode van Michaelis*.

De kleurstoffen voor deze methode zijn in den handel verkrijgbaar en wel

α	dinitrophenol	pH 2.8—4.4
γ	" "	" 4.0—5.4
p	nitro "	" 5.4—7.0
m	" "	" 6.8—8.4

terwijl eveneens de daarbij behorende reeksen standaard oplossingen met bekende pH geleverd worden in een gemakkelijk af te sluiten kistje.

De standaardoplossingen volgens *Michaelis* geven de pH aan op 0.2 nauwkeurig. De tinten zijn echter wel zoo duidelijk, dat het heel goed mogelijk is tusschenliggende kleuren waar te nemen, zoodat men gemakkelijk de pH op 0.1 nauwkeurig kan bepalen, terwijl men er na eenige oefening in slaagt deze zelfs op 0.05 nauwkeurig vast te stellen.

Voor de practijk worden bepalingen op 0.1 nauwkeurig alleszins voldoende geacht.

Potentiometer en de benoodigdheden voor de colorimetrische bepalingen volgens *Michaelis* ziet men op nevenstaande foto's afgebeeld.

HOOFDSTUK IV

EIGEN ONDERZOEKINGEN TE SOERABAJA VERRICHT

Bij het bestudeeren van de litteratuur over het bederf van vleesch is gebleken, hoe moeilijk het is dit langs chemischen of bacteriologischen weg aan te toonen, terwijl het daarbij is komen vast te staan, dat alle methoden om beginnend bederf te diagnostiseeren ten eenenmale hebben gefaald. Toch valt het op, hoe alle onderzoekers het er over eens zijn, dat het juist bij de beoordeeling van voedingsmiddelen gaat om dat beginnend bederf te constateeren.

Het organoleptisch onderzoek, dus het onderzoek naar den reuk, consistentie, kleur, eventueel den smaak voldoet in geenen deele. Reeds is er op gewezen, dat het niet objectief is, zoodat door verschillende beoordeelaars een verschillende maatstaf wordt aangelegd en men zelfs nog verder kan gaan en zeggen, dat de maatstaf van denzelfden onderzoeker veelal niet constant is. Bij mijn inleiding werd reeds op het een en ander de aandacht gevestigd. Aan de hand van een reeks onderzoekingen, hieronder vermeld, is nagegaan of de reactie van het vleesch door bepaling van de concentratie van de waterstof-ionen ons een beter houvast zou kunnen geven. Indien dat werkelijk het geval zou zijn, dan moet het verrichten van deze bepalingen eenvoudig en gemakkelijk zijn en gauw uitsluitsel geven, wil ze voor de praktijk geschikt zijn en daar ingang vinden. Daarbij moeten de te benoodigen middelen zonder veel kosten zijn aan te schaffen.

De proeven te Soerabaja verricht, gelden alleen *rundvleesch*; ze moeten worden beschouwd als voorloopige, oriënteerende waarnemingen, met de bedoeling deze later met betere middelen en meer uitgebreid te herhalen en dan daarbij eveneens andere soorten vleesch te betrekken.

De resultaten bij deze in Indië verkregen proefnemingen wettigen echter wel, hieraan een afzonderlijk hoofdstuk te wijden.

De onderzoeken zijn aangevangen met pH bepalingen van versch vleesch.

Daar de pH van vaste stoffen moeilijk is te bepalen, moet men zooveel mogelijk de stoffen, welke door hun reactie van invloed kunnen zijn, in oplossing brengen. Men doet dit het beste door van het vleesch een waterig extract te maken. De in water oplosbare stoffen, welke door hun ionisatie toch de pH bepalen, krijgt men dan wel alle in oplossing; dat zijn voor vleesch hoofdzakelijk de oplosbare zouten, de koolhydraten en hun omzettingsproducten, en de oplosbare eiwitten en hun latere afbraakproducten, als peptonen, polypeptiden en aminozuren.

Bij de bereiding van de extracten ben ik als volgt te werk gegaan:

Ongeveer 2 gram vleesch wordt afgewogen en zoo fijn mogelijk gesneden en daarna fijn gewreven in een schoone en met aqua dest. gereinigde mortier. Het spreekt van zelf dat alle glaswerk goed gereinigd moet worden en dit geldt speciaal voor de Erlemeierkolfjes en reageerbuisen. Alle glaswerk wordt met gedest. water uitgekookt en voor het gebruik nog eens met koud aqua dest. omgespoeld. Aan het fijn-gewreven vleesch wordt dan ongeveer 20 c.c. koud gedest. water toegevoegd en men laat het daarna een 15 à 20 minuten staan. Het is mij daarbij gebleken, dat het geen verschil maakt of men daarvoor gebruikt koud of warm aq. dest. Over het algemeen zal de pH van gedest. water niet geheel en al neutraal zijn, doch door opname van CO_2 uit de lucht iets

zuur reageeren. Door verwarmen verdrijft men het CO_2 , zoodat ik in den aanvang water heb gebruikt, dat van te voren licht verwarmd was. Later is mij gebleken, dat dit geheel en al overbodig is en ik geen verschillende uitkomsten kreeg bij gebruik van koud of verwarmd water.

Het aldus verkregen vleeschnat wordt gefiltreerd door gewoon filtreerpapier. Door dit filtreren verandert de pH niet. Na het filtreren krijgt men gewoonlijk een voldoende helder filtraat, dat het aspect van heldere bouillon heeft of soms iets licht rood gekleurd is.

Dit filtraat is gebruikt voor pH bepaling volgens de colorimetrische methode. Als indicatoren zijn gebruikt de in Hoofdstuk III vermelde kleurstoffen broomthymolblauw en phenolrood. Voor de bereiding van de standaardoplossingen wordt naar dit hoofdstuk verwezen.

Aan 10 c.c. van het filtraat worden 5 of ook wel 10 druppels verdunde kleurstof toegevoegd. Bij het toevoegen van meer druppels verandert de tint niet, doch wordt de kleur slechts intensiever.

De eerste bepalingen heb ik gedaan van vleeschextracten, afkomstig van vleesch, dat ongeveer 18 uur oud was. De runderen waren den vorigen dag te 2 uur 's namiddags geslacht en het vleesch werd den volgenden morgen te ongeveer 8 uur onderzocht.

Herhaaldelijk heb ik de beschikking gehad over het vleesch van geheele runderen, welke wegens algeheele cysticercosis waren afgekeurd voor de consumptie, zoodat ik in de gelegenheid was verschillende gedeelten van het lichaam te onderzoeken.

De volgende gedeelten heb ik van een zelfde rund onderzocht:

Kaakspier

nekspieren

verschillende spieren op en onder den schouder gelegen peilers van het middenrif

glutaei

gastrocnemius.

Extracten van alle boven aangegeven spiergedeelten vertoonden dezelfde pH van 6.2. Verschillende uitkomsten van de pH werden nooit gevonden bij vleesch afkomstig van dezelfde dieren.

De reactie van het vleesch is dus niet neutraal, doch zuur. Uit een 25-tal bepalingen verricht van vleesch, afkomstig van verschillende runderen en ongeveer 18 uur na het slachten is gebleken, dat de pH gemiddeld bedraagt 6.2. Als laagste uitkomst is gevonden 6.1 als hoogste 6.4.

Het is mij bij mijn proeven te Soerabaja vooreerst te doen geweest na te gaan, of men bij bederf van vleesch een duidelijke verandering van de pH van de extracten zou kunnen vaststellen. Om dit aan te toonen heb ik eenige stukken vleesch een etmaal bewaard in een gesloten Petrischaal bij kamertemperatuur. Het vleesch vertoont dan een duidelijke rottingslucht, is pappig en kleverig geworden en groen verkleurd en hier en daar zijn gasblazen gevormd. Organo-leptisch is dit vleesch als geheel bedorven te beschouwen. Met lakmoespapier is een zwak alcalische reactie aan te toonen; de verrichte Ebersche proef valt duidelijk positief uit. De pH van het extract bedraagt 7.5.

Eenige andere bepalingen van op dezelfde wijze of in mindere mate bedorven vleesch bevestigen deze waarneming; zoo zijn uitkomsten gevonden van 7.2—6.8—7.5—7.0—7.2 etc.

Alhoewel organoleptisch bij alle vleeschmonsters een duidelijk bederf was aan te toonen, viel de Ebersche salmiakproef slechts op 2 uitzonderingen na negatief uit.

Alvorens voort te gaan met het vermelden van de uitkomsten van verdere onderzoeken, dien ik er eerst de aandacht op te vestigen, dat men bij de keuze van het vleesch er zorg voor moet dragen, de voor het onderzoek bestemde gedeelten zooveel mogelijk uit de diepte te nemen, dus stukjes vleesch te nemen, welke niet met de lucht in aanraking zijn geweest. Men dient er zich vooral voor te hoeden, bepalingen te doen van bloederige of ingedroogde, wat donker gekleurde vleeschrandjes van b.v. oude doorsneden, daar men anders

gemakkelijk miswijzingen krijgt. Ditzelfde geldt ook voor het onderzoek naar bederf. Het te onderzoeken vleesch lijkt oppervlakkig dikwijls geheel en al bedorven, terwijl het er van binnen nog frisch uit ziet, organoleptisch geen veranderingen zijn waar te nemen en uit de lage pH dan ook inderdaad blijkt dat er geen omzettingen hebben plaats gevonden.

Aangemoedigd door de resultaten van mijn eerste onderzoekingen verkregen bij goed en bedorven vleesch, heb ik nagegaan of ook bij vleesch, dat den geheelen morgen op de pasar had gelegen en onverkocht was gebleven, en door aspirantkoopers dan ook was versmaad, een hooge pH was aan te toonen. Dit bleek inderdaad het geval; waarden variërenden van 6.9 tot 7.4 zijn daarbij herhaaldelijk gevonden.

Daarentegen gaf versch uitziend vleesch van de pasar weer dezelfde normale lage cijfers, n.m.l. gemiddeld 6.2.

Totaal zijn onderzocht een 40-tal monsters pasarvleesch, waarvan 16 organoleptisch goed en 24 monsters meer of minder bedorven waren. De laatste zou men kunnen indeelen in monsters, welke sterk bedorven waren, dus verkleurd en min of meer stinkend en monsters gering bedorven met zooals wij het kwalificeerden, een eenigszins „verdacht” luchtje.

Organoleptische bevinding: 16 monsters met een pH van goed: 6.0 en 6.2; het overgrootste deel met $\text{pH} < 6.2$.

Organoleptische bevinding: 14 monsters met een pH van gering bedorven met iets af- 6.4 tot 7.0, doch nooit lager wijkende reuk of kleur. dan 6.4.

Organoleptische bevinding: 10 monsters met een pH van sterk bedorven met onaangename lucht, kleverige consistentie en grauwe roode kleur. 6.8 tot 7.2, doch niet lager dan 6.8.

Uit de resultaten van bovenstaande proefnemingen kreeg ik al gauw den indruk, dat er een groot verschil bestaat in reactie van goed en bedorven vleesch en een correlatie is waar te nemen tusschen mate van bederf en gevonden pH, met andere woorden dat de pH stijgt al naar mate het bederf toeneemt.

Om het beloop te kunnen nagaan van de pH heb ik verder een reeks bepalingen verricht, waarbij werd uitgegaan van versch vleesch, en dat ik bij kamertemperatuur heb laten bederven.

Het is mij daarbij gebleken, dat het laten bederven van een stuk vleesch nog niet zoo gemakkelijk is als dit wel lijkt. Hangt men n.m.l. een stuk spier, vooral als het omgeven is van een spierfascie, b.v. in de zuurkast van het laboratorium op, zooals ik dit in Soerabaja deed, of in een andere goed geventileerde ruimte, dan blijkt het zeer lang houdbaar te zijn. Zoo ben ik er in geslaagd, niettegenstaande de hoge temperatuur, welke er te Soerabaja heerscht, een dergelijk stuk vleesch meer dan 4 etmalen te bewaren, zonder dat bederf optrad. Het vleesch droogt langzamerhand uit en krijgt een gerookt aspect. Bij deze „bederf”proeven ben ik de eerste keeren uitgegaan van vleesch, afkomstig van runderen, welke den vorigen dag waren geslacht, zoodat het vleesch reeds ongeveer 18 uur bestorven was. Toen ik de bepalingen eenige malen verrichtte van vleesch van runderen kort of direct na het slachten, dus van nog slachtwarm vleesch, bleek mij, dat een veel hogere pH werd gevonden dan van bestorven vleesch, n.m.l. van gemiddeld 6.7. Als hoogste waarde werd gevonden 6.8, als laagste 6.5.

Na den dood treedt dus een daling op, tot gemiddeld 6.2, waarna deze weer stijgt wanneer bederf begint op te treden.

Om dit beloop van de pH te kunnen nagaan, zijn verschillende stukken vleesch op verschillende manieren bewaard. Naast de verrichte pH bepalingen zijn de resultaten van het organoleptisch onderzoek vermeld:

MONSTER I.

Stuk spier (achterbout rund), dat 18 uur bij kamertemperatuur (28° C.) in de slachthal heeft gehangen en daarna in de zuurkast is opgehangen.

TIJD	Organoleptische bevinding	pH
direct na het slachten	goed	niet bepaald
18 uur na het slachten	goed	6.2
na 24 uur hangen bij trop. kamertemp.	goed	6.2
" 36 " " " " "	goed	6.2
" 48 " " " " "	goed	6.3
" 72 " " " " "	bedorven (stinkend, grauw rood)	7.3
" 84 " " " " "	sterk bedorven	7.4

Een geringe stijging werd waargenomen tot 6.3 na 48 uur hangen; organoleptisch is dan niets abnormaals waar te nemen, alhoewel toch reeds blijkt, dat er al omzetting begint plaats te vinden, zoodat na korten tijd algeheel bederf is ingetreden (pH 7.3).

Hetzelfde ziet men in:

MONSTER II.

Vleesch als in I.

TIJD	Organoleptische bevinding	pH
direct na het slachten	goed	niet bepaald
18 uur na het slachten	goed	6.3
na 24 uur hangen bij trop. kamertemp.	goed	6.3
" 30 " " " " "	goed	6.3
" 48 " " " " "	goed	6.4
" 60 " " " " "	bedorven (stinkend, grauw rood)	6.9

MONSTER III.

Stuk spier (achterbout), ongeveer 6 uur bewaard bij kamertemperatuur (28° C.) in de slachthal en 12 uur in een koelkamer (4° C.); daarna opgehangen de in zuurkast.

TIJD	Organoleptische bevinding	pH
direct na het slachten	goed	niet bepaald
18 uur na het slachten	goed	6.3
na 6 uur hangen bij trop. kamertemp.	goed	6.3
" 18 " " " " " "	goed	6.3
" 30 " " " " " "	goed	6.3
" 54 " " " " " "	goed	6.4
" 66 " " " " " "	Gering bedorven, (gering onaangename lucht-kleur en consistentie nog goed)	6.6

Volledig bederf is niet opgetreden; het vleesch kreeg alleen een wat onaangename lucht, terwijl de pH slechts is gestegen van 6.3 tot 6.6.

MONSTER IV.

Vleesch na het slachten gedurende eenige uren bewaard bij kamertemperatuur (28° C. slachthal) en daarna in de koelkamer; na 18 uur bewaard op een tafel onder een vliegendeksel.

TIJD	Organoleptische bevinding	pH
direct na het slachten	goed	6.5
na 18 uur bewaren	goed	6.3
" 24 " " " " " "	goed	6.3
" 30 " " " " " "	goed	6.3
" 42 " " " " " "	gering bedorven, (iets verkleurd en onaangenaam ruikend)	6.8
" 48 " " " " " "	als boven	6.9
" 66 " " " " " "	sterk bedorven	7.2

MONSTER V.

Vleesch behandeld als boven, doch daarna bewaard op een tafel zonder vliegendeksel.

TIJD	Organoleptische bevinding	pH
direct na het slachten	goed	6.6
na 18 uur bewaren	goed	6.1
" 24 " "	goed	6.1
" 30 " "	goed	6.1
" 42 " "	sterk bedorven	7.0

Uit boven vermelde waarnemingen wordt tevens duidelijk het dalen van de pH aangetoond, welke bij het bestervingsproces plaats vindt; n.m.l. in monster IV van 6.5 tot 6.3 en in monster V nog beter, n.m.l. van 6.6 tot 6.1.

Uit de resultaten van de vermelde proeven is verder komen vast te staan, dat de reactie van het vleesch verandert bij het besterven en het intreden van bederf en dat deze verandering op gemakkelijke en eenvoudige wijze door middel van de pH bepaling volgens de colorimetrische methoden is aan te toonen.

Plaatst men nog eens de gevonden uitkomsten in een tabel onder elkaar, dan kan men hieruit gemakkelijk afleiden bij welke pH men kan spreken van (beginnend) bederf.

	Gemiddelde pH	Hoogste pH	laagste pH
Vleesch, direct na het slachten	6.7	6.8	6.5
" 18 uur bewaard . .	6.2	6.4	6.1
" (pasar: organolept. goed)	6.1	6.2	6.0
" organoleptisch bedorven	—	7.4	6.4

We kunnen hieruit lezen, dat de pH van 18 uur oud en bestorven vleesch hoogstens bedraagt 6.4 welke hoogste uit-

komst slechts in 2 van de 25 gevallen is gevonden, terwijl de andere 23 bepalingen alle uitkomsten hebben gegeven van lager dan 6.4. Daarnaast is gevonden, dat de pH van goed pasarvleesch nooit hoger is dan 6.2, terwijl deze van organoleptisch waarneembaar bedorven vleesch minstens 6.4 bedraagt.

Naar aanleiding van deze bevindingen kan men gerust tot de conclusie komen, *dat alle vleesch, waarvan het extract een pH heeft van 6.4 als niet meer geheel versch is te beschouwen en vleesch met een pH boven de 6.4 als reeds in beginnend bederf verkeerend en deswegen ongeschikt om voor de consumptie te worden goedgekeurd.*

Daar ik in Indië niet de beschikking had over een goede potentiometer, was ik niet in de gelegenheid de gebruikte standaardoplossingen te controleeren of naast de bij vleesch-extracten verrichte colorimetrische bepalingen ter vergelijking electrometrische metingen te doen.

Van deze vergelijkende bepalingen en de verwerking van meer materiaal te Utrecht verricht, worden in het volgend hoofdstuk mededeelingen gedaan.

Alvorens dit hoofdstuk af te sluiten kan ik nog de resultaten vermelden, van door mij verrichte onderzoekingen over het *kiemgehalte* van pasarvleesch van Soerabaja.

Deze onderzoekingen waren reeds eerder verricht dan de reeds vermelde pH bepalingen en staan met deze niet in verband.

Onderzocht werd een 20-tal monsters vleesch, welke er alle organoleptisch goed uit zagen. Van ieder monster vleesch werden op de gewone bekende wijze 2 bouillon- en 2 schuine agarbuisjes geënt. Geen der geënte voedingsbodems bleef steriel, zoodat hieruit blijkt, dat bacteriële infectie van het vleesch al reeds had plaats gevonden, voordat waarneembaar bederf was te constateeren. Uit vrijwel alle monsters konden daarbij tevens colibacillen worden gekweekt.

Deze bevinding is n.m.m. voldoende bewijs, dat men aan

het onderzoek van het kiemgehalte van vleesch geen of een zeer relatieve waarde moet toekennen en dat men van sterk kiemhoudend vleesch op grond van het bacteriologisch onderzoek alleen, niet kan zeggen dat het ondeugdelijk is of minder geschikt voor de consumptie, doch hoogstens dat dergelijk vleesch indien het bewaard moet blijven bij hogere temperatuur en grootere vochtigheidsgraad sneller in bederf zal overgaan, dan vleesch dat minder kiemhoudend is.

HOOFDSTUK V

ONDERZOEKINGEN TE UTRECHT

VERRICHT

§ 1. Het was van belang, alvorens verdere pH bepalingen van verschillende vleeschextracten te verrichten, zoowel de potentiometrische als de colorimetrische methoden te onderzoeken en te controleeren.

a. *Contrôle potentiometrische en colorimetrische methoden.*

De contrôle van den electro- of potentiometer in hoofdstuk III beschreven is geschied met de reeds eerder vermelde fosfaatmengsels volgens *Sørensen*, n.l. met N/15 KH_2PO_4 en N/15 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ oplossingen, bevattend dus resp. 9.078 en 11.876 gram per 1000 c.c. (De zouten waren afkomstig van *Kahlbaum*). Een mengsel bevattend 60 c.c. Na_2HPO_4 en 40 c.c. KH_2PO_4 moet volgens *Clark* een pH hebben van 6.979.

De pH waarde van dit mengsel is als contrôlemiddel herhaaldelijk bepaald voor en gedurende de verrichte metingen der vleeschextracten.

Gevonden zijn op verschillende tijdstippen van het onderzoek de volgende waarden:

$$\begin{aligned} 5-3-'30 \quad \text{AO}_1 &= 33.6 \\ &= 33.6 \quad \text{pH} = 6.959 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 6-3-'30 \quad \text{AO}_1 &= 33.6 \\ &= 33.6 \\ &= 33.6 \\ &= 33.55 \quad \text{pH} = 6.959 \end{aligned}$$

2.4-'30	$AO_1 = 33.65$	$pH = 6.977$	pH colorim.
	$= 33.65$		p. nitrophenol. 7.0
4.4-'30	$AO_1 = 33.50$	$pH = 6.924$	6.9
	$= 33.50$		

Behalve bij de eerste metingen, waarbij de benodigde hoeveelheden nauwkeurig waren afgemeten en afgepipetteerd en toen de nauwkeurigheid van den potentiometer dus reeds was gebleken, ben ik later bij het mengen van de vloeistoffen minder nauwkeurig te werk gegaan en zijn de verschillende mengsels der fosfaatoplossingen met een gewoon maatglas afgemeten. Dit verklaart de verschillende uitkomsten $AO_1 = 33.60; 33.65; 33.50$.

Naast de electrometrische bepalingen zijn dan echter tegelijkertijd colorimetrische metingen volgens *Michaelis* gedaan.

Samengesteld is verder een reeks van fosfaat mengsels in onderstaande verhoudingen, waarvan met den potentiometer en volgens de methode van *Michaelis* de pH waarden zijn bepaald. Aan deze mengsels is toegevoegd per c.c. 1 druppel broomthymolblauw of phenolrood oplossing. Deze mengsels hebben gediend als standaard-oplossingen en zijn in gelijksoortige met paraffine afgesloten buisjes in het donker bewaard. Gemaakt zijn de volgende mengsels:

fosfaatmengsel				pH electrometrisch	pH colorim. p. nitrophen.
7 c.c. $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ en 3 c.c. KH_2PO_4				$AO_1 = 34.0$	$pH = 7.101 > 7.0$
6.5	"	3.5	"	" = 33.85	" = 7.048 7.0
6	"	4	"	" = 33.325	" = 6.858 6.9
5	"	5	"	" = 33.1	" = 6.683 6.7
4	"	6	"	" = 32.5	" = 6.571 6.5
3	"	7	"	" = 32.2	" = 6.465 6.4
2	"	8	"	" = 31.45	" = 6.200 6.2
1.5	"	8.5	"	" = 30.8	" = 5.971 6.0
1	"	9	"	" = 30.5	" = 5.864 5.9
0.5	"	9.5	"	" = 29.8	" = 5.654 5.7

Alle electrometrische bepalingen zijn in duplo verricht.

Uit vorenstaande uitkomsten blijkt dus, dat er eveneens weinig verschil bestaat tusschen de electrometrische uitkomsten en de colorimetrische bepalingen met p. nitrophenol volgens *Michaelis*.

Gedurende het onderzoek is een nieuwe platina-electrode aangeschaft, daar de oude door een ongeluk onklaar werd. Alvorens deze in gebruik werd genomen, heeft contrôle eveneens plaats gehad.

datum	mengsel	AO ₁	pH electrom.	pH phenolrood	colorimetrisch p. nitrophenol
30-4-'30	fosfaat-	33.4	6.889	6.9	6.9
12-5-'30	mengsels	33.3	6.858	6.9	—
22-5-'30		33.35	6.871	6.9	6.95

Hieruit blijkt, dat ook de nieuwe platina-electrode weinig verschillende uitkomsten geeft, zoodat hierna voldoende zekerheid werd verkregen, dat groote miswijzingen bij de verrichte bepalingen niet hebben plaats gehad.

b. *Bereiding van de vleeschextracten.*

In hoofdstuk 3 is het een en ander medegedeeld over de wijze, waarop bij mijn proeven in Soerabaja de vleeschextracten werden bereid.

Bij de te Utrecht verrichte bepalingen ben ik in hoofdzaak op dezelfde wijze te werk gegaan.

Het fijnwrijven in een mortier van fijn gesneden stukjes vleesch bleek voor de bereiding van een goed extract niet noodig te zijn. Men kan volstaan door b.v. 10 gram vleesch in 20 à 25 stukjes te snijden en deze te laten extraheeren met een 10-voudige hoeveelheid gedest. water.

Ik heb bij de bereiding van mijn extracten altijd gebruik gemaakt van fleschjes van 100 c.c. met een wijdmondsche opening en afgesloten met een kurk. Fleschje en kurk moeten voor het gebruik goed gereinigd worden en ten slotte eenige malen worden om- en afgespeeld met koud aqua dest.

Bij de keuze van het vleesch bepaalt men zich tot het uitsnijden van stukken mager vleesch uit de diepte, zooals

reeds in het vorige hoofdstuk is medegedeeld. Neemt men bloederige of donker gekleurde stukjes van oppervlakte of van de randen dan krijgt men te hooge uitkomsten, in vergelijking met die uit diepere gedeelten.

Het vleesch laat men daarna minstens $\frac{1}{4}$ uur extraheeren. Daarna filtreert men door een filter van gewoon filtreerpapier. Het filter doorspoelt men eerst weer met gedest. water, terwijl het Erlemeyer kolfje, waarin het filtraat moet worden opgevangen, eveneens met deze vloeistof wordt omgespoeld.

Het aldus verkregen filtraat van goed vleesch, lijkt op bouillon of is soms iets rood gekleurd.

Daar men de potentiaal der H ionen, dus de ware zuurgraad (zie hierover Hoofdstuk 2) wil bepalen, is de concentratie der opgeloste stoffen niet van beteekenis, daar slechts het aantal geïoniseerde moleculen wordt gemeten, welke niet, of slechts gering afhankelijk is van de eerste grootheid. Meer of minder verdunnen van de oplossing heeft geen of althans heel weinig invloed op de uitkomsten der bepalingen.

Daarom kan men het vleesch ook eerst malen door een vleeschmolen, en daarna extraheeren. Ook hier moet men voor voldoende reinigen en spoelen van den molen met gedest. water zorg dragen.

Tenslotte kan men de bepalingen ook doen met vleeschperssappen, waarbij voor de te gebruiken pers hetzelfde geldt als voor den vleeschmolen. Men doet het beste, de doek, waarin men het vleesch voor het persen doet, eerst met aqua dest. uit te koken. Het perssap is echter veel rooder van kleur, waardoor het voor colorimetrische bepalingen dikwijls ongeschikt kan zijn. Verdunning van het sap met gedest. water doet de kleur wel verminderen, doch dikwijls niet geheel verdwijnen, wat natuurlijk bij de uitvoering der bepalingen een bezwaar is. Het tweede nadeel is, dat men voor de bereiding van perssappen een veel grootere hoeveelheid vleesch moet hebben, welk nadeel ook wel eenigszins geldt voor het malen van het vleesch.

Het maakt weinig of geen verschil of men zich bij de

meting bedient van extracten, van fijn gehakt of gemalen vleesch of van vleeschperssappen. Het eenvoudigste is, de eerst vermelde methode toe te passen, waarom bij mijn onderzoekingen in het algemeen, van deze is gebruik gemaakt.

Voorts is het gebleken, dat het weinig verschil maakt, of men voor de bereiding van de extracten koud, of opgekookt aqua dest. gebruikt of de stukjes vleesch met gedest. water uitkookt. Ook door eenige uren staan verandert de pH van de extracten niet. Verdunning van de reeds verkregen extracten met gedest. water geeft om de reeds vermelde redenen eveneens weinig verschillen in de uitkomsten.

Eenige proeven, het bovenstaande betreffende kunnen in verband hiermede worden vermeld.

Vleesch, afkomstig van een rund uit de sectiezaal van het Pathologisch Instituut en ongeveer 3 uur dood.

Uit $\frac{1}{2}$ Kg. vleesch geperst ongeveer 20 c.c. roodgekleurd perssap

perssap onverdund		Bij alle bepalingen is gevonden
5 c.c.	verdund met 45 aqua dest. (ongekookt)	$AO_1 = 32.8$,
5 c.c.	" " 45 " " (gekookt)	pH = 6.678

Vleesch afkomstig rund postpartum, ongeveer 30 uur oud.

perssap onverdund		Bij alle bepalingen is gevonden
5 c.c.	verdund met gelijke deelen aqua dest. (gek.)	$AO_1 = 32.8$,
5 c.c.	" " " " " " (ongek.)	pH = 6.678

Verdunning van het vleeschperssap met gekookt of ongekookt aqua dest. maakt dus geen verschil.

Vleesch, afkomstig van het bovenbedoelde rund, na 4 dagen bewaren in de frigidaire.

	pH colorimetrisch		
	B.T.B.	P.R.	p. nitrophenol
Vleeschperssap	6.8	6.8	6.8
Verdunning 1 : 10	6.8	6.8	6.8
Koud extract van fijn gesneden stukjes vleesch	6.8	6.8	6.8

Vleeschextracten en vleeschperssappen geven dus dezelfde uitkomsten.

Het extract kan gerust eenigen tijd staan; de bepaling behoeft dus niet direct na het bereiden te worden verricht; de pH verandert daardoor niet, zooals uit onderstaande uitkomsten is gebleken.

Vleesch (peilers middenrif) afkomstig sectiezaal.

	pH electrom.	pH colorimetrisch B.T.B.	p. nitrophenol
Waterig extract 1:10	—	6.3	6.3
Na 4 uur staan	6.218	6.3	6.3

Vleesch van hetzelfde rund na 4 dagen in frigidaire bewaard:

Waterig extract 1:10	—	6.5	6.5
Na 5 uur staan	6.430	6.5	6.4

De extracten werden bewaard in een open Erlemeyer kolf bij kamertemperatuur.

Vleesch, geëxtraheerd met koud, gekookt aqua dest. en bereid door het met gedest. water op te koken.

	Extract met ongekookt water	Extract met gekookt water	vleesch, opgekookt met water
pH electrom.	6.924	6.854	6.882
pH colorim. (p. nitr. ph.)	7.0	6.85	6.95

Ten slotte is nog eens, wat misschien overbodig, de invloed van filtratie nagegaan. Voor en na het filtreren, krijgt men dezelfde uitkomsten.

Filtratie alleen door gewone watten geeft minder mooi extract. Het beste extract krijgt men na filtratie door gewoon filtreerpapier, zoodat het filtraat voldoende helder en doorzichtig wordt voor colorimetrische bepalingen.

Wat de duur van het filtreren betreft, heb ik evenals *Andrjevsky* opgemerkt, dat extracten afkomstig van goed vleesch veel sneller filtreren dan extracten van bedorven vleeschmonsters.

Het is niet onmogelijk, dat er door het kiemgehalte en door de omzetting door deze veroorzaakt en misschien ook door verandering van de reactie, minder goed oplosbare stoffen worden gevormd in de laatste monsters, waardoor gemakkelijk verstopping van het filter optreedt en de extracten moeilijker filtreren.

Daarbij geven extracten van goed vleesch heldere doorzichtige filtraten, terwijl die van bedorven vleeschmonsters altijd troebel zijn. Het is mij hierbij opgevallen, dat dit erger wordt naar mate het vleesch meer bedorven is.

Van de meeste bepalingen wordt daarom de hoedanigheid van het extract zooals dit ook door *Andrjevski* en enkele anderen is gedaan, naast het resultaat van de pH bepaling vermeld.

Uit de bovenstaande bepalingen is gebleken, dat men de pH metingen evengoed kan verrichten langs colorimetrischen als langs electrometrischen weg en dat de uitkomsten van beiden weinig uiteenloopen. Storende stoffen, welke bij de colorimetrische bepalingen afwijkingen zouden kunnen veroorzaken (eiwit- of zoutfouten) treden daar blijkbaar niet bij op.

De potentiometrische bepalingen hebben dus uitsluitend beteekenis om aan te toonen dat,

1e. de colorimetrische vastgestelde waarden zeer dicht liggen bij de potentiometrische waargenomen physische grootheden.

2e. goed uitgewerkte colorimetrische bepalingen door onderscheidene onderzoekers verricht, zullen dus vergelijkbaar en van waarde zijn, wanneer eenige contrôle-bepalingen met den potentiometer worden ingeschakeld.

Voor zoover mij bekend, is dit door andere onderzoekers niet gedaan.

Bij de metingen van de extracten van de rundvleeschmonsters zijn tegelijkertijd geregeld potentiometrische waarnemingen verricht, doch de meeste bepalingen zijn gedaan volgens de colorimetrische methode van *Michaelis*.

§ 2. A. Rundvleesch.

De verrichte onderzoekingen, van rundvleesch, kunnen worden gegroepeerd in een viertal klassen, n.m.l. van:

klasse a. versch vleesch, direct of kort na het slachten onderzocht;

klasse b. bestorven vleesch, ongeveer 24 uur na den dood van het slachtdier onderzocht;

klasse c. bestorven vleesch, meer dan 24 uur na den dood van het slachtdier onderzocht;

klasse d. bedorven vleesch,

waarbij het beloop van de pH tijdens het bewaren en bederven van een 15-tal vleeschmonsters van runderen zal worden nagegaan.

De resultaten van de verrichte metingen van extracten van paarden- en varkensvleesch zullen afzonderlijk worden vermeld.

a. *Versch rundvleesch, direct of kort na het dooden van het dier onderzocht.*

Afkomstig van	Tijd na het slachten	pH		
		electrom.	colorimetr.	
			B.T.B.	p. nitroph.
voorbeen	3 uur	6.678	—	—
kaakspier	slachtwarm	—	6.5	6.5
peiler middenrif ¹⁾ .	"	6.218	6.3	6.3
achtervoet	"	—	6.3	6.3
voorvoet	"	—	6.3	6.3
achtervoet	"	—	6.3	6.3
voorvoet	"	6.677	6.7	6.8
achtervoet	"	—	6.6	6.7
middenrif	"	—	6.6	6.6
"	"	—	—	6.6
"	20 min.	—	6.5	6.5
"	"	—	6.6	6.6
"	slachtwarm	6.359	6.3	6.3
"	"	—	6.6	6.6
"	"	—	6.6	6.6
"	"	—	6.6	6.5
"	"	—	6.6	6.6
"	"	—	6.7	6.7
"	"	—	6.6	6.6
"	"	6.748	6.8	6.8
"	"	—	6.7	6.8
"	"	—	6.4	6.4
"	"	6.606	—	6.6
"	"	—	6.6	6.6
"	"	—	6.6	6.6
"	"	—	6.6	6.6

¹⁾ In den vervolge kortweg aangeduid als middenrif.

Uit bovenstaande tabel blijkt wederom, dat de bepalingen volgens de verschillende methoden weinig verschillen geven. Dientengevolge zijn nog van een *twintigtal vleeschmonsters* afkomstig van verschillende plaatsen van het lichaam direct na den dood uitsluitend colorimetrische bepalingen met p. nitrophenol verricht, met de volgende resultaten:

Gevonden is:

2	maal	een	pH	van	6.8
8	"	"	"	"	6.7
8	"	"	"	"	6.6
2	"	"	"	"	6.5

Deze 20 uitkomsten geven met de 25 voorgaande bepalingen een totaal van 45 bepalingen behorende tot deze groep, zoodat de volgende resultaten kunnen worden genoteerd:

pH p. nitrophenol

6.3	.	.	.	.	.	.	5	maal
6.4	.	.	.	.	.	.	1	"
6.5	.	.	.	.	.	.	5	"
6.6	.	.	.	.	.	.	19	"
6.7	.	.	.	.	.	.	10	"
6.8	.	.	.	.	.	.	5	"

De pH van extracten van rundvleesch, direct na den dood van het slachtdier onderzocht, loopt dus van 6.3 tot 6.8, terwijl als gemiddelde is gevonden 6.6.

b. *Bestorven rundvleesch, ongeveer 24 uur na den dood van het slachtdier onderzocht.*

Het materiaal voor deze bepalingen is in hoofdzaak afkomstig geweest van rundvleesch, dat eenige uren bij buitenluchttemperatuur (de onderzoekingen werden in de maanden Mei tot Augustus verricht) gehangen heeft, en daarna is bewaard in het voorkoelhuis (temp. $\pm 10^{\circ}$ C.) Bij het z.g.n. „afsteken” in de vroege morgenuren op het slachthuis, kreeg ik de beschikking over stukjes vleesch van verse doorsneden, o.a. van de tusschenribspieren (Musci. intercostales)

en longissimi dorsi terwijl daarnaast eveneens vele malen de peilers van het middenrif en vleesch van enkele voor- en achterbouten zijn onderzocht.

De onderzoekingen zijn veelal ter plaatse verricht langs colorimetrischen weg, terwijl daarnaast van een 4-tal monsters ter contrôle potentiometrische bepalingen zijn gedaan:

stukjes vleesch uit:	pH	
	electrom.	colorim. (p. nitroph.)
voorvoet	5.760	5.8
"	5.618	5.5
achtervoet	5.689	5.7
middenrif	6.360	6.2

Het laatste stukje is afkomstig van een rund, waarbij een eenigszins afwijkend besterven optrad, waardoor het vleesch een ongewonen vochtigen indruk maakte. Zoo is door mij nog eens een pH van 6.4 gemeten bij een eveneens „vochtig” rund en dat deswegen werd afgekeurd. Deze moeten bij beschouwingen over de pH van „normaal” vleesch dus niet worden medegerekend.

Totaal zijn onderzocht geworden een 20-tal vleeschmonsters van verschillende plaatsen van het lichaam en afkomstig van even zoovele runderen, met de volgende resultaten:

pH.p.nitrophenol

5.5	2 maal
5.6	3 „
5.7	4 „
5.8	10 „
5.9	1 „

De pH van extracten van rundvleesch 24 uur na het slachten loopt dus van 5.5 tot 5.9, terwijl als gemiddelde is gevonden 5.7.

Een groot aantal, zoowel electrometrische als colorimetrische bepalingen zijn verricht met vleeschextracten, behorende tot de volgende groep:

c. *Bestorven rundvleesch, langer dan 1×24 uur na den dood van het slachtdier onderzocht.*

Tijd na het slachten	Afkomstig van	pH	
		electrometr.	colorimetr. p.nitrophenol
36 uur	voorvoet	—	5.8
2 dagen	"	5.644	—
2 "	achtervoet	5.618	—
2 "	"	—	5.9
2 "	voorbout	—	5.9
2 "	middenrif	6.007	5.9
2 "	voorvoet	6.183	6.2
2 "	middenrif	5.760	5.8
2 "	muisje ¹⁾	5.830	5.9
2 "	"	—	5.7
2 "	"	5.547	5.55
2 "	"	5.689	5.6
2 "	"	—	6.1 ²⁾
2 "	"	—	5.6
2 "	biefstuk	6.011	6.0
2 "	"	—	6.0
4 "	"	5.720	5.8
4 "	schenkel	—	6.0
4 "	achtervoet	—	6.0
5 "	"	—	5.7
5 "	onbekend	6.077	6.0
7 "	schouder	6.025	5.9
7 "	tussenribspier	—	5.8
7 "	achtervoet	6.025	5.9
8 "	"	5.707	5.7

Vervolgens is nog bepaald uitsluitend volgens de methode *Michaelis* de pH van 18 monsters rundvleesch, 2 à 3 dagen na het slachten. Deze monsters zijn gedurende dien tijd bewaard in het koelhuis van het abattoir te Utrecht en afkomstig van verschillende plaatsen van het lichaam.

Hierbij is gevonden 10 maal een pH van 5.9

5 " " " " 5.8

3 " " " " " 5.7

¹⁾ Met muisje wordt bedoeld de *Musc. psoas major*.

²⁾ Is voor de bepaling gedurende eenige dagen in de frigidaire bewaard.

Verder zijn nog volgens dezelfde methode onderzocht 12 monsters *Deensch rundvleesch*, eveneens van verschillende plaatsen afkomstig en genomen kort na aankomst in het slachthuis te Amsterdam.

Gevonden is:	2	maal	een	pH	van	5.6
	1	"	"	"	"	5.7
	5	"	"	"	"	5.8
	2	"	"	"	"	5.9
	2	"	"	"	"	6.0

Ten slotte is 2 maal een pH geconstateerd van 5.9 bij 2 stukken *Argentijnsch vleesch*.

Totaal zijn dus onderzocht 57 monsters vleesch, waarvan de pH waarden lopen van 5.55 tot 6.2, terwijl als gemiddelde is gevonden 5.85.

Slechts in 2 gevallen is een pH gemeten van > 6.0. De andere uitkomsten bedragen alle 6.0 en de meesten zijn kleiner dan 6.0, n.l.:

Gevonden is:	1	maal	een	pH	van	5.5
	6	"	"	"	"	5.6
	7	"	"	"	"	5.7
	14	"	"	"	"	5.8
	20	"	"	"	"	5.9
	7	"	"	"	"	6.0
	1	"	"	"	"	6.1
	1	"	"	"	"	6.2

Uit de bovenstaande uitkomsten blijkt tevens dat *Deensch* en *Argentijnsch vleesch* voldoende bestorven is en dat de pH niet stijgt door bewaren en door het transport.

Alle extracten van de onder a, b en c gerangschikte vleesch-monsters waren na filtreeren geheel en al helder, terwijl de kleur van alle leek op heldere bouillon of nu en dan licht rose rood was gekleurd.

d. *Bedorven rundvleesch.*

Het is niet gemakkelijk, indien men zulks wenscht, de beschikking te krijgen over bedorven vleesch. Daarom ben ik genoodzaakt geweest om voldoende materiaal te verkrijgen, verschillende monsters vleesch in bederf te doen overgaan, waarmede de volgende resultaten zijn verkregen:

MONSTER I.

Stukje spier, afkomstig van achterbout rund.
Bewaard bij 28° C. (opgehangen in tropenkamer)

Datum en organoleptische bevinding	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
23-4-'30 9 u. v.m. goed	helder	5.707	5.70	verdunningen 1:10 en 1:4 geven dezelfde uitkomsten
4 u. n.m. goed	helder	5.760	5.70	
24-4-'30 10 u. v.m. iets weeë lucht, aan de oppervlakte wat schimmels, oppervlakkig; wat kleverig; in de diepte kleur wat grauw	helder	—	6.00	
25-4-'30 10 u. v.m. op doorsnee wat vochtig en kleverig; lucht iets onaange- naam	ger. troebel	—	6.40	

Beginnend bederf ingetreden na 24 uur.

MONSTER II.

Een zelfde stuk vleesch als in I, doch bewaard bij kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevinding	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
24-4-'30 3 u. v.m. goed	helder	—	5.90	
25-4-'30 9 u. v.m. goed	helder	—	5.70	
2 u. v.m. goed	helder	5.865	5.80	verduunning 1 : 1 met aq. dest. geeft dezelfde uitkomst.
26-4-'30 9 u. v.m. aan de oppervlakte iets uitgedroogd; verder goed	helder	—	5.90	
28-4-'30 10 u. v.m. buitenkant inge- droogd: korst met onaangename geur en hier en daar kleverige plekken. buitenste ged.:	st. troebel	—	(6.50)	meermalen is waargenomen, dat op het eerste gezicht de kleur van het vleesch op versche door- snee wat grauw is. Deze heldert echter snel op.
binnengedeelte nog goed, versche door- snee heldert gauw op. binnenste ged.	ger. troebel	—	6.00	

Bederf alleen opgetreden aan de oppervlakte en de vlak daaronder gelegen laag (6.50). Binnengedeelte nog goed, alhoewel reeds een geringe stijging valt waar te nemen.

MONSTER III.

Stukje spier, omgeven door een fascie, afkomstig slagerij ter stede;
bewaard bij kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevinding	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
28-4-'30 3 u. v.m.	helder	5.830	5.90	vleesch steriel: geen groei in bouillon en op schuine agar
29-4-'30 9 u. v.m. goed	helder	5.636	5.65	
2 u. n.m. goed	helder	—	5.65	
30-4-'30 10 u. v.m.	helder	5.601	5.65	beide bouillon- buisjes na eenige dagen troebel; vleesch nog goed, doch reeds kiemhoudend
1-5-'30 9 u. v.m. uitw.: korstvorming met daartusschen op enkele plaatsen be- ginnende vervloei- ing; onaangename lucht	ger. troebel	—	(6.20)	
inwendig: goed	helder	—	5.65	vleesch sterk kiemhoudend
2-5-'30 10 u. v.m. goed	helder	—	5.70	
3-5-'30 10 u. v.m. inw.: kleur heldert gauw op; reuk, con- sistentie goed	helder	—	5.70	
5-5-'30 uitw.: veel schimmels inw.: goed	helder	—	5.70	
7-5-'30 het geheel krijgt een gerookt aspect	helder	—	5.70	
12-5-'30 als boven	helder	—	5.90	

Niettegenstaande na 2 dagen het vleesch al kiemhoudend is, is na 15 dagen de organoleptische bevinding nog goed en blijft de pH beneden 6.0.

MONSTER IV.

Versch vleesch, niet omgeven door een spierfascie, afkomstig slagerij ter stede; geslacht 29-4-'30, bewaard (opgehangen) bij kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevinding	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
30-4-'30 10 u. v.m. goed	helder	—	5.70	
1-5-'30 10 u. v.m. goed	helder	—	5.60	
2-5-'30 goed				
3-5-'30 goed				
5-5-'30 goed	helder	—	5.60	
6-5-'30 10 u. v.m. op oude sneevlakte wat groenachtig ver- kleurd; consistentie nog goed, reuk goed oude sneevlakte	helder	—	6.05	
versche sneevlakte	helder	—	5.70	
7-5-'30 als boven	helder	—	5.70	
12-5-'30 aspect van rook- vleesch	helder	—	5.70	

Na 13 dagen de organoleptische bevinding van dit vleesch nog goed. De pH blijft beneden 6.0.

MONSTER V.

Versch vleesch als No. IV; 5 dagen geleden geslacht, bewaard in tropenkamer (28° C.)

Datum en organoleptische bevinding	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
2-5-'30 goed	helder	5.547	5.55	groei in bouillon en op schuine agar; dus van den aanvang af kiemhoudend.
2-5-'30 10 u. v.m. van buiten wat donker, van binnen wat grauw; kleur heldert snel op; reuk-consistentie goed.	helder	5.547	—	
5 u. n.m. als boven	helder	—	5.60	
3-5-'30 uitwendig wat ingedroogd aspect; van binnen goed	helder	—	5.60	

Het stukje vleesch was daarna te klein geworden om eventueel optredend bederf verder na te gaan.

MONSTER VI.

Stuk spier „muisje” afkomstig van slagerij ter stede, bewaard bij kamertemperatuur. (17—20° C.)

Datum en organoleptische bevinding	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
5-5-'30 goed	helder	5.689	5.60	geen groei in bouillon en op schuine agar; vleesch dus steriel.
7-5-'30 korstvorming opgetreden; hier en daar vochtige kleverige plekken; van binnen goed	helder	—	5.60	groei in bouillon en op schuine agar.
12-5-'30 van buiten en op oude doorsnee wat groenachtig verkleurd en stinkend;	troebel	—	(6.60)	
van binnen op verse doorsnee goed	helder	—	5.70	

Na 7 dagen alleen het buitenste gedeelte bedorven (pH 6.60). Van binnen nog goed, niettegenstaande het vleesch reeds na 2 dagen kiemhoudend was.

Uit de resultaten van de 6 voorgaande monsters blijkt hoe moeilijk het is vleesch te laten bederven, vooral als het omgeven is door een spierfascie, en in een goed geventileerde ruimte wordt opgehangen. Er vormt zich na eenige dagen een harde korst, welke hier en daar onwelriekende, vochtige en kleverige plekken gaat vertoonen, maar waaronder men weer het goede vleesch aantreft. De korstvorming gaat ook maar weinig diep.

Het vleesch onder de korst blijkt organoleptisch niet alleen goed te zijn, maar niettegenstaande het lange bewaren blijft de pH laag of vertoont slechts geringe stijging. Onderzoekt men echter het buitenste gedeelte, dan neemt men wel een stijging waar, welke echter niet zoo belangrijk is, daar men bij het wegsnijden van de korst nooit zoo dun kan snijden of men neemt wel een gedeelte van het goede onderliggende weefsel mede.

Over het algemeen waren de vleeschmonsters bij het begin van de bederfproeven steriel. Het is gebleken, dat infectie, dus bacterieele doorwoekering, al gauw plaats vindt, terwijl het vleesch daarbij normaal blijft en weinig omzettingen vallen te constateeren. Naar aanleiding hiervan mag men dus wel zeggen, dat men op grond van de aanwezigheid van kiemen in het vleesch, dit niet zonder meer als bedorven mag beschouwen. Het kiemgehalte staat in geenerlei verband met de organoleptische bevindingen, noch met de concentratie der H ionen van het waterige extract.

Men kan dus niet zeggen: het vleesch is kiemhoudend of het kiemgehalte van het vleesch is te hoog, dus het is bedorven, doch hoogstens dat sterk kiemhoudend vleesch, bewaard onder minder gunstige omstandigheden wel sneller in bederf zal overgaan dan weinig kiemrijk vleesch.

In verband met de moeilijkheden om vleesch op de aangegeven wijze te laten bederven, heb ik bij mijn volgende waarnemingen het vleesch in kleine stukjes verdeeld en op een schaal aan de lucht bewaard. Toen bleek, dat nog eerder indroging dan bederf plaats vond, ben ik er toe overgegaan, het vleesch door een molen te vermalen en het verkregen gehakt in kleine bakjes onder een glazen stolp te bewaren. Door onder de stolp tevens een klein bakje met water te plaatsen, werd voor voldoende vochtigheidsgraad zorg gedragen.

Bederf trad hiermede wel sneller en ook vollediger in, doch het nadeel is, dat de organoleptische bevindingen minder scherp worden en verder natuurlijk van een vergelijkend bacteriologisch onderzoek moest worden afgezien.

MONSTER VII.

Versch vleesch, afkomstig van een slagerij ter stede, eenige dagen geleden geslacht, in kleine stukjes (ong. 5-5-5 cM.) gesneden, en bewaard bij;

a. kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	pH p. nitrop.	Bijzonderheden
8-5-'30, 9 uur v.m. kleur wat grauww; reuk en consistentie goed	6.10	het vleesch heeft alvorens het is onderzocht een nacht verpakt in perkamentpapier in de frigidaire gelegen.
9-5-'30, 10 uur v.m. De vleeschstukjes zijn onooglijk donker geworden; consistentie wat week, reuk normaal; beginnend bederf?	6.30	
12-5-'30. Het vleesch is hard en zwart geworden en uitgedroogd; onaangename lucht	6.60	

b. tropentemperatuur ong. 27° C.

Datum en organoleptische bevindingen	pH p. nitrop.	Bijzonderheden
9-5-'30, 10 uur v.m. kleur onooglijk donker, consistentie hier en daar pappig; onaangename lucht; organoleptisch iets bedorven	6.50	

Volgens organoleptische waarneming het vleesch ingedroogd en iets bedorven; de pH stijgt van 6.1 tot 6.5 en 6.6.

MONSTER VIII.

Vleesch (biefstuk) uit slagerij ter stede, vermalen tot gehakt, bewaard onder klok bij:

a. kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH p. nitrop.	Bijzonderheden
12-5-'30, goed	helder	5.90	Het extract meer rood gekleurd. Bij colorim. bepaling, extract verdund 1:5.
13-5-'30 geen verandering	helder	5.90	
15-5-'30, 10 uur v.m. vervloeiing opgetreden, voelt pappig en kleverig aan; kleur vuil grijs; reuk stinkend; bedorven	troebel	7.30 ¹⁾	¹⁾ m. nitrophenol p. nitrophenol > 7.—

b. tropentemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH p. nitrop.	Bijzonderheden
12-5-'30 goed	helder	5.90	
13-5-'30 Oppervlakkig wat donkerder; Onder- vlakte wat grijs, doch niet stinkend	helder	6.05	
15-5-'30, 10 uur v.m. in alle opzichten be- dorven.	troebel	7.70 ¹⁾	¹⁾ m. nitrophenol p. nitrophenol > 7.—

Zoowel volgens organoleptische waarneming als door pH bepaling blijkt zooals te verwachten was, het bederf bij tropentemperatuur sneller en vollediger plaats te vinden. Bij de laatste een stijging van 5.9—7.7.

MONSTER IX.

Vleesch (biefstuk) 5 dagen oud, afkomstig van slagerij ter stede.
Gemalen, bewaard onder klok bij:

a. kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
15-5-'30, 3 uur n.m. goed	helder iets rood gekl.	6.077	6.05	Het stukje vleesch vertoont aan de randen een don- kere kleur;
16-5-'30, 10 uur v.m. kleur wat vuilgrauw; consistentie wat kle- verig; gering stin- kend	gering troebel	6.677	6.60	
Idem, 3 uur n.m. kleur vuilgrauw; consistentie pappig en kleverig; onaan- gename stank	troebel	—	7.10 ¹⁾	¹⁾ m. nitrophenol.

b. tropentemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
16-5-'30, 10 uur v.m. kleur vuilgrauw; consistentie kleverig; reuk: stinkend	troebel	7.066	—	
Idem, 4 uur n.m. in alle deelen be- dorven, stinkend en vochtig kleverig	troebel	—	7.3 ¹⁾	¹⁾ m. nitrophenol.

De pH is gestegen van 6.05—7.30, terwijl bij 6.6 reeds beginnend bederf was te constateeren.

MONSTER X.

Vleesch (biefstuk) afkomstig slagerij ter stede; geslacht 12-5-'30,
dus 4 dagen oud; gemalen en onder klok bewaard, bij:

a. kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
16-5-'30, 4 uur n.m. goed	helder licht rose-rood	5.720	5.85	pH van gemalen en fijn gesneden vleesch blijkt ge- lijk 5.85
17-5-'30, 10 uur v.m. kleur wat grijs; consistentie en reuk nog goed	helder	—	5.90	vleesch geëxtra- heerd 10 min. en 90 min.; pH is van beide 5.9; duur van het ex- traheeren maakt dus geen verschil
19-5-'30, 10 uur v.m. kleur grijs; consi- sistentie kleverig en stinkend	—	—	7.30	1) m. nitrophenol

b. tropentemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
17-5-'30, 10 uur v.m. kleur grijs; consi- sistentie iets kleverig; iets onaangename lucht	ger. troebel	6.130	6.10	
19-5-'30, sterke rottingslucht; sterk vervloeid- con- sistentie pappig	zeer troebel	—	7.65	1) m. nitrophenol

De pH is gestegen bij organoleptisch waarneembaar bederf van 5.85 tot 7.65.

MONSTER XI.

Vleesch (biefstuk) uit slagerij; 2 dagen tevoren geslacht; gemalen, bewaard onder klok bij:

kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim	
19-5-'30, 10 uur v.m. goed	helder	—	6.00	Het gemalen vleesch ligt in het bakje ongeveer 2 cM. hoog; er blijkt geen verschil te bestaan tusschen de extracten van het vleesch van de bovenste en onderste gedeelten.
Idem, 3 uur n.m. goed	helder	6.011	6.00	
20-5-'30, 10 uur v.m. kleur wat grijs; consistentie goed; reuk wat muff; beginnend bederf	gering troebel	6.360	6.40	

Bij een pH van 6.4 is volgens organoleptische waarneming beginnend bederf aanwezig.

MONSTER XII.

Vleesch (biefstuk) eenige dagen in frigidaire gelegen; gemalen en daarna bewaard bij:

tropentemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorim.	Bijzonderheden
20-5-'30, 11 uur v.m. goed	helder	6.05	
Idem 2 uur n.m. kleur wat grauww; consistentie goed	helder	6.25	
Idem 5 uur n.m. kleur meer grauww; consistentie wat kleverig; geen onaangename lucht,	gering troebel	6.35	
21-5-'30, 10 uur v.m. kleur grauww; consistentie kleverig en vervloeid; reuk stinkend; bedorven	troebel	7.40	
22-5-'30, 10 uur v.m. kleur grauww; vervloeid erg stinkend	troebel	7.80	

Doordat het vleesch voor de proef eenige dagen is bewaard, heeft het vermoedelijk aan weerstandsvermogen ingeboet en is daardoor gauwer in bederf overgaan.

De pH is gestegen van 6.05 tot 7.80; bij 6.35 is nog geen duidelijk bederf waarneembaar.

MONSTER XIII.

Vleesch (biefstuk) uit slagerij ter stede; datum van slachten niet bekend; gemalen en bewaard bij:

a. kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
26-5-'30, 4 uur n.m. goed	helder	6.183	6.25	Het vleesch is vanaf Zaterdag tot Maandag bewaard in de koelkast van de slagerij. Ziet er des Maandags dan niet meer versch uit (vrij hoge pH)
27-5-'30, 11 uur v.m. kleur grijs; consistentie kleverig; geringe stank	troebel gering rood	7.048	7.1	met lakmoespapier geen alcalische reactie aan te toonen
Idem 3 uur n.m. stank toegenomen:	zeer troebel	—	7.1	

Eenige andere bakjes zijn bewaard onder een klok, waaruit de lucht zooveel mogelijk is verwijderd; klok geplaatst in:

b. tropentemperatuur.

27-5-'30, 2 uur n.m. Bij openen geringe H_2S lucht ¹⁾ ; kleur en consistentie goed Daarna klok wederom gesloten en lucht uitgepompt	vrij helder	6.307	6.4	¹⁾ met Pb papier niet aan te toonen
30-5-'30 geweldig bederf met enormen stank; groene verkleuring	zeer troebel	—	7.4	lucht was gedeeltelijk weer toegetreden door onvoldoende sluiten van de klok

De pH is gestegen van 6.2 tot 7.1 en 7.4 bij duidelijk waarneembaar bederf; bij 6.4 reeds een geringe afwijking te constateeren.

MONSTER XIV.

Vleesch (biefstuk) afkomstig van slagerij ter stede; vleesch 2 dagen oud; gemalen en onder klok bewaard bij;

kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH		Bijzonderheden
		electrom.	colorim.	
27-5-'30, 4 uur n.m. goed	helder	5.565	5.65	
28-5-'30, 10 uur v.m. kleur hier en daar wat grauww; consistentie goed; niet kleverig	helder	5.989	6.05	
Idem 7 uur n.m. kleur hier en daar grauw; consistentie iets kleverig; reuk niet frisch?	ger. troebel	6.253	6.30	beginnend bederf volgens organoleptische waarneming
29-5-'30, 11 uur v.m. kleur; donkerrood in 't binnengedeelte; aan onder- en oppervlakte grauww; consistentie kleverig; stank	zeer troebel	7.031	7.10	

De pH stijgt hier van 5.65 tot 7.1; bij 6.3 organoleptisch reeds iets beginnend bederf waar te nemen.

Monster XV.

Dit vleesch is afkomstig van een proefkoe van de Interne Kliniek. Het dier is kort voor den dood geslacht (geschoten en verbloed). Bij het verbloeden is weinig bloed uitgevloeid.

Ik kreeg de beschikking over een geheele achterbout, zoodat naast het bederven het beloop van de pH bij het besterven kon worden nagegaan.

De pH van het zich nog contraheerende, slachtwarmed vleesch 20-5-'30 4 u. n.m. bedraagt electrometrisch 6.713 en colorimetrisch 6.85

20-5-'30 7 u. n.m. resp. 6.748 en 6.85.

Een daling van de pH is dus na 3 uur nog niet merkbaar; men kan zeggen, dat deze practisch dezelfde gebleven is.

21-5-'30 10 u. v.m. is de achterbout hard geworden; de kleur, reuk en de consistentie zijn goed. De pH is echter in die 18 uren gedaald tot resp. 5.954 en 6.05.

De filtraten van de monsters direct na het slachten en na 18 uur bewaren zien er helder en doorzichtig uit. De achterbout is gedurende dien tijd bewaard bij de gewone kamertemperatuur van 18 tot 20° C. Daarna is het vleesch bewaard in de koelkamer van het Pathologisch Instituut (temp. ong. 6° C.). We zien dat de daling zich nog voortzet, want na 2 dagen hangen is:

23-5-'30 3 u. n.m. pH p. nitrophenol 5.65.

Een verdere daling werd ook na eenige dagen niet waargenomen. Een gedeelte van dit vleesch, in gemalen toestand bewaard, bederft daarna zeer snel. Den volgenden dag was het betreffende monster zeer stinkend, kleverig en pappig, terwijl de langs colorimetrische weg gemeten pH bedraagt 7.5.

Uit de in voorgaande proeven verzamelde waarnemingen bij bedorven vleesch, kan men nu de volgende tabel samenstellen.

Organoleptische beoordeeling van het vleesch	Hoedanig- heid van het extract	pH		Bijzonderheden
		electr. color.		
beginnend bederf	ger. troebel	—	6.3	kleur donkerder geworden; consistentie wat vochtig; reuk normaal.
" "	" "	6.253	6.3	kleur hier en daar wat grauw; consistentie iets kleverig; reuk niet frisch?
" "	" "	—	6.4	op doorsnee wat vochtig en kleverig; lucht iets on- aangenaam.
" "	" "	—	6.4	kleur grauw; consistentie goed; reuk wat muf.
" "	" "	—	6.4	kleur en consistentie goed; geringe H ₂ S lucht.
gering bedorven	ger. troebel	—	6.5	kleur donker; hier en daar consistentie wat kleverig; wat onaangename lucht.
" "	" "	6.677	6.6	kleur wat grauw; consistentie iets pappig en kleverig; lucht gering stinkend.
" "	" "	7.066	—	kleur vuil grauw; consistentie kleverig; onwelriekende lucht.
" "	" "	7.048	7.1	consistentie kleverig; geringe stank.
sterk	" "	—	7.1	kleur vuil grauw; consistentie erg kleverig; rottingslucht.
" "	" "	—	7.1	idem.
" "	sterk "	—	7.3	idem.
" "	" "	—	7.3	idem.
" "	" "	—	7.3	idem.
" "	" "	—	7.4	idem.
" "	" "	—	7.5	idem.
" "	" "	—	7.65	idem.
" "	" "	—	7.7	idem.
" "	" "	—	7.8	idem.

Dank zij de medewerking van de Directie van het Amsterdamsche Slachthuis ben ik nog in de gelegenheid geweest de pH te bepalen van een aantal monsters bedorven Deensch vleesch. Uit de onder c gebrachte bepalingen is reeds gebleken, dat de pH, zooals trouwens ook te verwachten was, bij goed Deensch vleesch even laag is, als bij goed Hollandsch vleesch, zoodat het voldoende bestorven in Holland aankomt.

Dit vleesch wordt in gekoelden toestand vervoerd. Na aankomst te Amsterdam, wanneer het ter keuring in de slachthal hangt, ziet het er veelal, als het gedurende het transport warm weer is geweest, aan de buitenzijde minder versch uit, terwijl daarbij dikwijls een onaangename lucht is waar te nemen. Bij het organoleptisch onderzoek moet hoofdzakelijk op afwijkingen in kleur en reuk worden gelet, terwijl men aan het onderzoek van de consistentie, in verband met het feit dat het vleesch gekoeld is en dus harder is, niets heeft.

De buitenvlakten zijn niet zelden om bederf te voorkomen behandeld met een zoutsolutie van mij onbekende samenstelling. Het spreekt vanzelf, dat deze gedeelten ongeschikt zijn voor de bepaling van de pH.

Alvorens het vleesch in de consumptie kan worden gebracht, moet het, indien het er niet goed uit ziet, zgn. worden „opgeknapt”, waarmede bedoeld wordt, dat de minder goede gedeelten worden af- of uitgesneden. Niet zelden worden daarbij groote stukken vleesch afgekeurd. Van deze stukken zijn door mij eenige bepalingen verricht kunnen worden.

Onderzocht zijn de extracten van 20 stukken vleesch, afkomstig van even zooveel runderen.

Met de colorimetrische methode volgens *Michaelis*, zijn bij dit wegens beginnend of volledig bederf afgekeurde Deensche vleesch, de volgende getallen gevonden.

№	Proef	Extrakt	Extrakt	Extrakt	Extrakt
1	1	0.1	0.1	0.1	0.1
2	2	0.2	0.2	0.2	0.2
3	3	0.3	0.3	0.3	0.3
4	4	0.4	0.4	0.4	0.4
5	5	0.5	0.5	0.5	0.5
6	6	0.6	0.6	0.6	0.6
7	7	0.7	0.7	0.7	0.7
8	8	0.8	0.8	0.8	0.8
9	9	0.9	0.9	0.9	0.9
10	10	1.0	1.0	1.0	1.0

pH p. nitrophenol

6.3	2 maal
6.4	0 „
6.5	2 „
6.6	6 „
6.7	1 „
6.8	5 „
6.9	2 „
7.0	2 „

Waarden grooter dan 7.0 zijn uit den aard der zaak niet gevonden, daar men deze slechts aantreft bij sterk rottend vleesch.

Uit de gegevens, verkregen bij de bederfproeven, evenals uit de uitkomsten van afgekeurd Deensch vleesch, blijkt dat *bij beginnend bederf nimmer een pH is gevonden < 6.3, terwijl voorts is gebleken, dat deze waarde stijgt, als het bederf organoleptisch waarneembaar wordt.* Als hoogste pH bij sterke rotting is gevonden het getal 7.8.

B. Varkensvleesch

De extracten voor de bepalingen van de pH van varkensvleesch zijn op dezelfde manier bereid, terwijl wederom, als bij het onderzoek van de monsters rundvleesch is geschied, van verschillende plaatsen van het lichaam stukken zijn onderzocht. Ook hier zijn geen verschillende uitkomsten bij extracten van hetzelfde dier geconstateerd geworden.

Daar bij de proeven, verricht met rundvleesch, de electrometrische en de colorimetrische metingen geen noemenswaardige verschillen gaven, zijn de bepalingen bij varkensvleesch uitsluitend colorimetrisch volgens *Michaelis* verricht.

De onderzochte monsters waren hoofdzakelijk weer alle afkomstig van de peilers van het middenrif, terwijl daarnaast eenige malen vleesch ter beschikking stond van voor- of achterbouten. Men is echter bij de keuze der monsters bij

varkens nog al beperkt, omdat men uit den aard der zaak de beschikking moet hebben over vetvrij vleesch, terwijl het niet zoo gemakkelijk is bij het afgeslachte hangende dier zonder beschadiging stukjes, al zijn het kleine, af te snijden.

Overigens is ook hier dezelfde indeeling gevolgd.

a. *Varkensvleesch, direct na den dood van het slachtdier.*

De monsters zijn uitgesneden direct na het verlaten van de broeibak.

Gevonden is bij een 40-tal varkens:

10	maal	een	pH	van	6.30
2	"	"	"	"	6.35
6	"	"	"	"	6.40
12	"	"	"	"	6.45
10	"	"	"	"	6.50

De pH waarde ligt dus tusschen 6.3 en 6.5; de gemiddelde waarde bedraagt 5.9.

b. Daarna is wederom de pH op dezelfde manier gemeten van varkens, welke, behoudens eenige uren bij slachthaltemperatuur, 1×24 uur hadden gehangen in het voorkoelhuis van het slachthuis.

Bij een 14-tal monsters, afkomstig weer van de peilers van het middenrif en van vleesch van de schouderspieren is gevonden:

2	maal	een	pH	van	5.7
3	"	"	"	"	5.8
5	"	"	"	"	5.9
2	"	"	"	"	6.0
1	"	"	"	"	6.1
1	"	"	"	"	6.2

De pH waarde ligt dus tusschen 5.7 en 6.3; de gemiddelde waarde bedraagt 5.9.

c. *Bestorven varkensvleesch, langer dan 24 uur na den dood van het slachtdier onderzocht.*

Onderzocht zijn 26 monsters, afkomstig uit het koelhuis van het abattoir of uit de koelkasten van eenige slagers ter stede; gevonden is:

2	maal	een	pH	van	5.6
1	"	"	"	"	5.7
2	"	"	"	"	5.8
10	"	"	"	"	5.9
8	"	"	"	"	6.0
3	"	"	"	"	6.1

De pH waarde varieert van 5.7 tot 6.1. Als gemiddelde is gevonden 5.9.

Het extract van alle monsters onder groep a, b en c was helder en doorschijnend en gemakkelijk filtreerbaar.

a. *Bedorven Varkensvleesch.*

Ik heb niet de beschikking kunnen krijgen over „natuurlijk” bedorven vleesch, zoodat ik ook hier goed vleesch in bederf heb laten overgaan, waarbij het beloop van de pH is aangeetekend. Om spoediger bederf te verkrijgen, zijn de vleesch-monsters eveneens gemalen.

MONSTER I.

Versch varkensvleesch, afkomstig slagerij ter stede; reeds eenige dagen oud; bewaard bij:

Kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorimetrisch
13-8-'30, 10 uur v.m. goed	helder iets rose-rood	6.1
Idem, 4 uur n.m. goed	idem	6.0
14-8-'30, 10 uur v.m. iets onaangename lucht; gering kleverig; kleur onveranderd	gering troebel	6.6
15-8-'30, 10 uur v.m. kleverig, stinkend en bedorven	troebel	6.9

De pH stijgt dus van 6.1 tot 6.9, terwijl bij een pH van 6.6 reeds beginnend bederf aanwezig is.

MONSTER II.

Versch varkensvleesch, achterbout, 4 dagen tevoren geslacht.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extraet	pH colorimetrisch
21-8-'30, 10 uur v.m. goed	helder	5.7
22-8-'30, 10 uur v.m. iets kleverig; onaangename lucht; pas in- getreden bederf	troebel	6.7
Idem, 5 uur n.m.	zeer troebel	7.—

De pH stijgt hier van 5.7 tot 7.—, terwijl bij 6.7 reeds beginnend bederf is te constateeren.

MONSTER III.

Als boven. Vleesch echter 1 dag oud.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorimetrisch
26-8-'30, 4 uur n.m., goed	helder	6.05
27-8-'30, 10 uur v.m. iets kleverig en onaangename lucht	gering troebel	6.7

De pH stijgt hier van 6.05 tot 6.7 bij pas ingetreden bederf.

Ook bij varkensvleesch vindt men nagenoeg dezelfde uitkomsten als bij rundvleesch.

Bij bederf treedt eveneens een stijging van de pH op, terwijl het extract bij ingetreden bederf ook duidelijk troebel wordt.

Voorts is geconstateerd, dat bij een pH van 6.6 en 6.7 organoleptisch reeds duidelijk bederf is waar te nemen.

C. Paardenvleesch

Bij paardenvleesch zijn ook dezelfde bepalingen verricht als

bij rund- en varkensvleesch en is dezelfde indeeling gevolgd.

Het aantal onderzochte monsters is gering, in verband met het feit, dat slechts gedurende eenige dagen en dan nog in beperkte mate, paarden in het Utrechtsche abattoir worden geslacht. De pH is bepaald uitsluitend langs colorimetrischen weg.

a. *Paardenvleesch, direct na den dood van het slachtdier onderzocht.*

Onderzocht zijn een 17-tal monsters, afkomstig van verschillende plaatsen van het lichaam, doch hoofdzakelijk van het spierige gedeelte van de peilers van het middenrif.

Gevonden is:

6	maal	een	pH	van	6.50
6	"	"	"	"	6.60
5	"	"	"	"	6.70

De pH loopt van 6.50 tot 6.70 en bedraagt gemiddeld 6.60.

b. *Bestorven paardenvleesch, ongeveer 1×24 uur na den dood van het dier onderzocht.*

Dit vleesch is, nadat het eenige uren heeft gehangen bij buitenluchttemperatuur, bewaard in het voorkoelhuis van het slachthuis.

Onderzocht zijn eveneens 17 monsters.

Gevonden is:

2	maal	een	pH	van	5.8
6	"	"	"	"	5.9
4	"	"	"	"	6.0
5	"	"	"	"	6.1

De pH loopt van 5.8 tot 6.1; het gemiddelde is 6.0.

c. *Bestorven paardenvleesch, langer dan 1×24 uur na den dood van het dier onderzocht.*

Het vleesch is uitsluitend afkomstig uit vleeschwinkels, waar het is bewaard in koelkasten of bij gewone kamertemperaturen.

Slechts een 10-tal monsters vleesch, behorende tot deze rubriek, zijn onderzocht.

Gevonden is:

2	maal	een	pH	van	5.9
3	"	"	"	"	6.0
3	"	"	"	"	6.1
2	"	"	"	"	6.2

De pH loopt dus van 5.9 tot 6.2; het gemiddelde is 6.15.

d. *Bedorven vleesch.*

De bepalingen zijn ook hier verricht van versch vleesch, dat tot bederf is overgegaan.

Om dit sneller te doen plaats vinden is het vleesch weer eerst gemalen en daarna in bakjes onder een klok bewaard.

MONSTER I.

Versch vleesch van achterbout (biefstuk), 5 dagen oud, bewaard bij:

kamertemperatuur.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorimetrisch
28-7-'30, 11 uur v.m. goed	helder	6.0
Idem, 5 uur n.m. goed	helder	6.05
29-7-'30, 10 uur v.m. reuk niet erg versch; consistentie gering week en iets kleverig; beginnend bederf.	gering troebel	6.5
Idem, 4 uur n.m.	gering troebel	6.6
30-7-'30, 10 uur v.m. bedorven	troebel	6.8

De pH is gestegen van 6.0 tot 6.8. Bij 6.5 is reeds beginnend bederf ingetreden.

MONSTER II.

**Versch paardenvleesch (biefstuk) ongeveer 18 uren oud, bewaard bij:
kamertemperatuur.**

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorimetrisch
15-8-'30, 10 uur v.m. goed	helder; iets rood	6.1
Idem, 4 uur n.m. iets onaangename lucht; verder nog goed.	gering troebel	6.3
16-8-'30, 11 uur v.m. consistentie kleverig; reuk stinkend.	zeer troebel	7.1

De pH stijgt van 6.1 tot 7.1. Bij 6.3 reeds een heel geringe afwijking te constateeren.

MONSTER III.

**Versch paardenvleesch (biefstuk) 6 dagen oud, bewaard bij:
kamertemperatuur.**

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorimetrisch
20-8-'30, 10 uur v.m. goed	helder	6.0
Idem, 5 uur n.m. weinig veranderd	helder	6.2
21-8-'30, 9 uur v.m. bedorven	troebel	6.7

Hier een stijging van pH van 6.0 tot 6.7.

MONSTER IV.

Als monster III, 2×24 uur oud.

Datum en organoleptische bevindingen	Hoedanigheid extract	pH colorimetrisch
20-8-'30, 2 uur n.m. goed	helder	6.2
21-8-'30, 10 uur v.m. kleverig en gering onaangename lucht; gering bederf	gering troebel	6.9
Idem, 1 uur n.m.	gering troebel	7.0

Stijging van pH dus van 6.2 tot 7.0.

Bij ingetreden bederf wordt dus eveneens een stijging van de pH geconstateerd, terwijl bij een pH van 6.5 reeds bederf is waar te nemen.

HOOFDSTUK VI

BESCHOUWINGEN EN CONCLUSIES

Alvorens samen te vatten wat in de voorgaande hoofdstukken is behandeld en daarna conclusies te trekken uit de resultaten van de verrichte onderzoeken, lijkt het mij niet overbodig nog eens in het kort aan te geven wat de *doelstelling* van dit proefschrift is geweest.

Het is de bedoeling geweest in deze dissertatie een gedeelte van de vleeschkeuring te behandelen, welke den beoefenaar telkenmale opnieuw moeilijkheden oplevert, n.l. de *diagnostiek van vleesch, verkeerend in beginnend bederf*, of m.a.w. is gepoogd een methode aan te geven om het stadium, waarin men organoleptisch aan het te onderzoeken vleesch niets of heel weinig kan waarnemen, maar waarin het, naar later blijkt, reeds zoodanige veranderingen heeft ondergaan, dat het binnen zeer korten tijd in waarneembaar bederf overgaat, op een gemakkelijke, snelle en betrouwbare wijze te kunnen opsporen.

Uit het litteratuuroverzicht heeft men kunnen zien, hoe moeilijk het is reeds ingetreden bederf langs chemischen of bacteriologischen weg vast te stellen, terwijl alle pogingen, om het stadium van beginnend bederf, dat voor den met de keuring van vleesch belasten ambtenaar van het meeste belang is, tot nu toe hebben gefaald.

Te dien einde zijn in dit proefschrift nagegaan de *reactieveranderingen*, welke in vleesch post-mortem plaats vinden,

zoowel gedurende de periode van besterven als later bij het intreden van bederf.

Voor het bepalen van deze reactie is gebruik gemaakt van de meting van de concentratie van de waterstofionen (pH), zoowel volgens de potentiometrische- als colorimetrische methoden.

De eerste methode, welke voor de bepaling in de praktijk minder geschikt is, heeft in hoofdzaak slechts gediend als controle voor de uitkomsten met de laatste eenvoudige en daarom voor de praktijk bij uitstek geschikte methode, verkregen.

De pH van vleesch is nagegaan op verschillende tijdstippen na den dood van het slachtdier, n.l.:

- a. direct na den dood,
- b. 1×24 uur na den dood,
- c. langer dan 1×24 uur na den dood en
- d. van bedorven vleesch, aan de hand van verschillende monsters vleesch, welke in bederf zijn overgegaan.

Voegt men de daarbij verkregen uitkomsten in onderstaande tabel volgens de boven aangegeven indeeling bijeen, dan krijgt men de volgende cijfers:

Tijd na het slachten	Rundvleesch			Varkensvleesch			Paardenvleesch		
	pH			pH			pH		
	gemidd.	hoogste	laagste	gemidd.	hoogste	laagste	gemidd.	hoogste	laagste
a. direct na het slachten	6.6	6.8	6.3	6.4	6.5	6.3	6.6	6.7	6.5
b. 1×24 uur na het slachten	5.7	5.9	5.5	5.9	6.2	5.7	6.0	6.1	5.8
c. langer dan 1×24 uur na het slachten . .	5.8	6.2	5.55	5.9	6.1	5.7	6.15	6.2	5.9
d. bij bederf	—	7.8	6.3	—	(7.0)	6.5	—	(7.1)	6.3

Beschouwt men deze tabel, dan blijkt dat er een overeenkomst bestaat tusschen de uitkomsten der drie vleeschsoorten. Bij alle vindt men, dat de pH van het vleesch direct na het slachten, aanmerkelijk hooger is dan bij bestorven vleesch en het besterven zich duidelijk manifesteert door een dalen van de pH.

De pH van varkensvleesch, direct na den dood, is iets lager dan bij de andere vleeschsoorten, terwijl de pH van paardenvleesch niet zoo diep daalt als bij rund- en varkensvleesch.

Over het algemeen blijkt, dat de zuurvorming maximaal intreedt reeds binnen of kort na de eerste 24 uur na den dood van het dier, en bij langer bewaren constant blijft of weer gering toeneemt.

Een duidelijke stijging van de pH valt echter pas te constateeren, als beginnend bederf intreedt, terwijl deze bij organoleptisch waarneembaar bederf snel toeneemt.

Bij rundvleesch is zelfs een stijging bij sterke rotting geconstateerd tot 7.8. Varkens- en paardenvleesch zijn nooit zoolang bewaard tot algeheel bederf intrad, zoodat dergelijke hooge uitkomsten niet zijn gevonden. (De betreffende cijfers zijn daarom tusschen haakjes geplaatst.)

Is bederf reeds gering waarneembaar, dan ziet men dat de pH, voor wat betreft rund- en paardenvleesch, minstens 6.3 bedraagt, terwijl deze waarde voor varkensvleesch wat hooger ligt, n.l. 6.5.

Men kan zeggen, dat indien de pH van vleesch > 6.2 is, het juist verkeert in zoodanig stadium, dat het binnen zeer korten tijd zal bederven, terwijl bij een pH van 6.4 à 6.5 in het algemeen reeds waarneembaar bederf is ingetreden.

In het eerste geval is zulk vleesch nog geschikt voor de consumptie, als het direct wordt toe bereid, doch in verband met het feit, dat veranderingen zeer snel zullen volgen, moet het ongeschikt worden geacht, om nog eenigen tijd te worden bewaard.

Wil men de resultaten van de verrichte onderzoeken in enkele conclusies samenvatten, dan zou men deze als volgt kunnen formuleeren:

- Conclusie I. *De bepaling van de pH is de eenige methode, waarmede men de thanatologische veranderingen (besterven-bederven-stadium van beginnend bederf) van vleesch kan aantonen.*
- Conclusie II. *De pH bedraagt bij goed bestorven vleesch afkomstig van gezonde runderen en varkens 6.0 en is veelal kleiner dan 6.0; in uitzonderingsgevallen is deze iets grooter dan 6.0, doch nooit grooter dan 6.2. De waarden van paardenvleesch zijn iets hooger, doch ook nooit hooger dan 6.2.*
- Conclusie III. *Wordt de pH grooter dan 6.2, dan begint bederf in te treden, zonder dat dit in den regel nog met de organoleptische methode valt waar te nemen.*
- Conclusie IV. *Wordt de pH 6.4 à 6.5, dan is in den regel bederf met de organoleptische methode al min of meer waarneembaar.*
- Conclusie V. *De pH stijgt, al naarmate het bederf toeneemt.*
-

GERAADPLEEGDE LITTERATUUR

Andrjevski, A. Praktische Methoden zum Nachweis der Bakteriënvermehrung und zur Erkennung Vergiftungsgefährlichen Fleisches. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten d. Haustiere. Bnd. 32. p. 89. 1927.

Binder, S. Uit het Russisch geciteerd door Makarytscheff.

Brouardel, Pouchet en Loyer. Accidents causés par les substances alimentaires d'origine animale, contenant des alcaloides toxiques. Rapport au congrès international d'hygiène. Paris. 1889.

Camus-Jacques, Paul, Emile. Variations du pH des Viandes des boucheries. Paris, Diss. 1928.

Clark, W. Mansfield. The Determination of Hydrogen Ions. 1922.

Conradi. Beiträge zur Kenntnis der Reifung des Fleisches. Zeitschr. f. Fleisch u. Milchhygiene 1901. Heft 3 en 4.

Eber. Ein chemische Merkmale der Fäulnis-Beiträge zur Untersuchung animal. Nahrungsmittel-Archiv f. Wissensch. u. prakt. Tierheilkunde Bnd. 17, Heft 3.

— Beiträge zur Untersuchung animal. Nahrungsmittel-Berl. Archiv 18, p. 3.

Edelmann. Lehrbuch der Fleischhygiene. 1920.

Fooy. Een nieuwe methode om bederf van vleesch aan te toonen. Ned.-Indische Bladen voor Diergeneeskunde, Deel 41, Afl. 2. 1929.

Glage. Über die Bedeutung der Aromabakterien in der Fleischhygiene-Zeitschr. f. Fleisch u. Milchhygiene, Bnd. 11, p. 131.

— Über das Wesen und die Bedeutung der Todesprozesse-Zeitschr. f. Fleisch u. Milchhyg. Jg. 14, p. 27.

— Kompendium der angewandte Bakteriologie, 2e Aufl. 1913.

— Über die Bedeutung der flüchtigen Schwefelverbindungen für die Fleischhygiene-Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Bnd. 12, p. 5 en 33.

Gorovitz, Vlassova en Gologorsky. Zur Frage Sanitätsexpertise des Fleisches und der Fleischprodukte-Leningradski medizinski jurnal. 1928. (Geciteerd door Makarytscheff.)

Grace Mc. Guire, K. George Falk and Emil Bauman. The chemical investigation of spoiled meat-Journal of biological chemistry. Vol. 37. 1919.

- Grace Mc. Guire and George Falk.* Ammonia test for meatspoilage-Journal of biological chemistry, Vol. 37. 1919.
- Grüttner, F.* Fleischbeschau und Haltbarkeit des Fleisches. Berl. Tierärztliche Wochenschr. 1929, No. 13.
- Herzner, R. en Mann, O.* Feststellung des Anfangs des Fleischverderbens-Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungsmittel, Bnd. 52, No. 3.
- Jeserich en Niemann.* Über einige Fälle von Wurst und Fleischvergiftungen-Hygienische Rundschau, Bnd. 3, No. 18.
- Kolthoff.* Mariusbibliothek, No. 3.
- Kren.* Beitrag zur chemischen Physiologie und Pathologie. Zeitschr. f. Fleisch u. Milchhyg., Bnd. 11, p. 131.
- Lenfeld, J.* Untersuchung über die postmortalen Veränderungen des Fleisches, Wiener Tierärztl. W. schr. 1929. Jg. 16, p. 276.
- Untersuchung und Beurteilung des Fleisches bei Notschlachtungen. Zeitschr. f. Infekt. Krankh. d. Haustiere. 1929. Bnd. 35, p. 303.
- Lenz.* Über Fleischvergiftungen. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1925. Heft 2.
- Lukjanovitch.* Feststellungsmethoden der aktiven Reaktion (pH Werte) in Anwendung zur Beurteilung der Fleischfrische, (uit het Russisch geciteerd naar Marakjtscheff).
- Mai, C.* Wann ist eine Fleischware als verdorben zu betrachten? Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genussmittel. 1913. Bnd. 26.
- Makarytscheff, G. A.* Der Versuch einer biochemischen Fleischuntersuchung nach der Methode von Andrjevski. — Zeitschr. f. Infekt. Krankh. d. Haustiere. 1930, Bnd. 37, Heft 1.
- Meyer.* Beitrag zur Physiologie der Fleischreifung. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1910. Bnd. 4.
- Messner, H.* Über Nachweis der beginnenden Fleischfäulnis in der praktischen Lebensmittelcontrole. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1928. Jg. 39, Heft 69.
- Moran en Smith.* Postmortem changes in animal tissues. The conditioning of ripening of beef. Department of scientific and industrial research-Food investigation. Special Rapport No. 36, London. H.M. Stationery Office-Adastral House, Kingsway. W. C. 2.
- Moulé.* Intoxikation durch Fleischgenuss. Rev. gén. de med. vet. T.V.
- Moulton, C. Robert* Meat through the microscope. 1930.
- Muchlinsky.* Eine einfache Methode zur Bestimmung des Freien Ammoniaks im faulenden Fleisch. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1929, Jg. 39.
- Müller.* Der Reifungsprozess des Fleisches. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. Jg. 14, p. 27.

- Von Ostertag*. Handbuch der Fleischbeschau. 1923.
- Ostwald—Luther*. Physikalische Messungen. 1909.
- Ottolenghi*. Reifung und Zersetzung des Fleisches. Zeitschr. f. Nahr. u. Genussmittel. 1913. Bnd. 26.
- Van Oyen*. Microbiologische Onderzoeken. Tijdschr. v. Vergelijkende Geneeskunde, Deel 9, Afl. 4.
- Finale waterstof-exponent in suikerhoudende voedingsbodems, etc. Tijdschr. v. Vergelijkende Geneeskunde, Deel 8, Afl. 2 en 3.
- Piettre, Maurice*. Inspection des viandes et des aliments d'origine carnée. 1920.
- Plimmer, R. H. A.* Practical organic and biochemistry. 1918.
- Van Santen*. Academisch proefschrift. 1924.
- Scala en Bonamartini*. Refer. uit Ann. d'ig. sperimentale. 1909. Bnd. 19.
- Schmidt—Mühlheim*. Fleischvergiftung in Leipzig. Archiv. f. animal. Nahrungsmittel. Bnd. 5, p. 70.
- Straitz*. Die postmortale Reaktion der Muskulatur. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Bnd. 20, p. 41.
- Tissier en Martelly*. Recherches sur la putréfaction de la viande de boucherie. Ann. de l'institut Pasteur. Bnd. 17, No. 12.
- Turandin*. Biochemische Methoden der Fleischuntersuchung, (uit het Russisch naar Makarytscheff).

INHOUD

	Bladz.
Inleiding	9
 Hoofdstuk I. Litteratuuroverzicht over de veranderingen, welke in vleesch post-mortem optreden en de methoden om deze aan te toonen	14
§ 1. <i>Het besterven van vleesch</i>	14
§ 2. <i>Het bederven van vleesch</i>	21
a. Het aantoonen van bederf langs chemischen weg.	24
b. Het aantoonen van bederf langs bacteriologische weg	29
c. Waterstofionenconcentratie als indicator van bederf.	32
 Hoofdstuk II. Het begrip Waterstofionenconcentratie (pH)	40
 Hoofdstuk III. Methoden ter bepaling van de Waterstofionenconcentratie	43
§ 1. <i>De potentiometrische methode</i>	43
§ 2. <i>De colorimetrische methode</i>	56
 Hoofdstuk IV. Eigen onderzoekingen te Soerabaja verricht	60

Hoofdstuk V. Onderzoekingen te Utrecht verricht .	71
§ 1. a. <i>Contrôle potentiometrische en colorimetrische methoden</i>	71
b. <i>Bereiding van de vleeschextracten . .</i>	73
§ 2. a. <i>Rundvleesch</i>	77
b. <i>Varkensvleesch</i>	101
c. <i>Paardenvleesch</i>	104
Hoofdstuk VI. Beschouwingen en conclusies	109
Litteratuur	113

STELLINGEN

I.

De noodzakelijkheid van de oprichting van koelhuizen bij reeds bestaande of nog te bouwen slachthuizen in de grootere bevolkingscentra in Nederlandsch Oost-Indië is in de eerste plaats afhankelijk van de geografische ligging dier centra.

II.

De quantitatieve bepaling van het kiemgehalte in melk volgens de kleine-plaatmethode is in Indië de aangewezen methode voor de beoordeeling van de deugdelijkheid van dit voedingsmiddel.

III.

De bepaling van het zoogenaamde „reductasecijfer” kan de kleine-plaatmethode niet vervangen.

IV.

Bij het onderzoek van paarden in Indië, welke verdacht worden te lijden aan malleus, dient aan het morphologisch bloedonderzoek meer aandacht te worden besteed.

V.

In verband met het gevaar van de verspreiding van de Maltakoorts of Febris undulans in Indië, dient meer aandacht te worden besteed aan den invoer van Bengaalsche geiten dan tot nu toe het geval is geweest.

VI.

Bij de bestrijding van de tuberculose onder het melkvee in Nederlandsch-Indië is men niet gerechtigd dieren, uitsluitend op grond van een positieve conjunctivale of subcutane tuberculinatie, te doen afmaken.

VII.

Bij de combinatie van geneesmiddelen bij de Surratherapie verdient het aanbeveling, in de praktijk na te gaan, of hierbij een Bayer 205 vastheid, dan wel overgevoeligheid ontstaat.

VIII.

Het dooden van kleine huisdieren volgens de methode Wirth (Wiener Tierärztliche Wochenschrift, Jaargang XVII, Heft 6) verdient geen aanbeveling.

