

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

Over het ontstaan van salpeterranden in kaas

DOOR

F. W. J. BOEKHOUT, W. VAN DAM EN J. VAN BEYNUM.

(Ingezonden den 14 November 1925.)

Reeds vroeger, doch vooral in de laatste vijf jaren, werden ons uit de praktijk kazen, hetzij Edammer, Goudsche of Leidsche, toegezonden die, wanneer ze doorgesneden werden, een afwijkende kleur onder de korst vertoonden. ¹⁾ Deze kleur was niet immer dezelfde. Meerendeels was zij bruin, uitvloeiende in groen-geel, doch dikwijls kwam alleen groen-geel voor, soms slechts licht groen en een enkele maal werd bij een Leidsche kaas uitsluitend een rose en bij een Edammer een licht zwarte verkleuring waargenomen. De grootte van den gekleurden rand was eveneens zeer wisselend. Bij sommige kazen liep zij onder de geheele korst door, terwijl bij andere dit slechts voor een grooter of kleiner deel het geval was en de verkleuring dus meer plaatselijk optrad. Ook in de dikte was zeer veel verschil op te merken. Deze was zeer uiteenlopend en kon van $\frac{1}{2}$ c.M. tot eenige centimeters bedragen. In enkele gevallen had zich de verkleuring zelfs tot een diepte van 5 à 6 c.M. in de kaasmassa voortgezet.

Fig. 1 geeft een afbeelding van een dergelijke kaas. Het betrof hier een Goudsche kaas, afkomstig uit Friesland, welke wij door bemiddeling van den Zuivelconsulent ontvingen van een Zuivelfabriek.

Deze kaas was van een partij welke naar België werd verzonden, waar een zeker aantal dit verschijnsel bleek te vertoonen, wat bij andere partijen van dezelfde fabriek nog nooit was waargenomen. Toen de kaas was doorgesneden, vertoonde de eene zijde een normale kleur, behalve vlak onder de korst; de andere zijde was daarentegen aan de korst donkerbruin, naar het midden overgaande in donker groenbruin en vervolgens lichter groen. In den donkerbruinen rand

1) Deze verkleuring houdt geen verband met die, welke in Friesland eveneens „bruine rand” wordt geheeten en daarin bestaat, dat de korst ter diepte van enkele millimeters een glazig, bruinachtig aspect aanneemt.

De practici aldaar schrijven dit verschijnsel toe aan het gebruik van ijzerhoudend water.

208 3558

waren een massa gaatjes op te merken en enkele scheuren. Verder was het overige gedeelte der korst tot op geringe diepte bruin van kleur.

De vraag was nu op welke wijze dergelijke verkleuringen tot stand waren gekomen. Al spoedig rees het vermoeden dat de bij de kaasbereiding vrijwel algemeen gebruikte salpeter hierbij een rol zou spelen hoewel ons meermalen werd medegedeeld, dat geen salpeter bij de bereiding der betreffende kaas was gebruikt. Werkelijk vertoonden al deze kazen met diphenylamine de bekende ringreactie.¹⁾ Evenwel was deze reactie voor de geheele kaasmassa niet altijd gelijk. Vooral bij kazen met plaatselijke verkleuring konden dikwijls grote verschillen worden waargenomen. Daarbij kwam het vrij dikwijls voor dat de reactie optrad in het verkleurde gedeelte, terwijl ze ontbrak of zeer zwak was in het overige, niet verkleurde, deel der kaas. Aan de hand van deze gegevens zou men geneigd zijn de verkleuring toe te schrijven aan het voorkomen van salpeter als zoodanig in de kazen, doch daartegenover staat dat van een chemische inwerking daarvan op de kaasstof of het kleursel niets bekend is. Bovendien kwam hier nog bij dat verscheidene van de onderzochte kazen, hetzij dan dat de verkleuring plaatselijk was of de gekleurde rand over de geheele peripherie liep, de reactie ook vrij sterk in het niet verkleurde deel vertoonden. Deze feiten leidden ons er toe de oplossing in een andere richting te zoeken.

Van salpeter is bekend dat het een stof is welke zich door een groot aantal bacteriënsoorten gemakkelijk laat reduceeren tot nitriet. Daar kaas in vele opzichten een uitstekende voedingsbodem is voor bacteriën, zoo bestond de mogelijkheid dat zich daarop of daarin o. a. bacteriën zouden bevinden, welke in staat waren het nitraat om te zetten in nitriet. Waar nu nitriet in een zure omgeving met eiwitten, als aminoverbindingen, omzettingen kan geven, zoo zou op deze wijze een verklaring voor de eigenaardige verkleuring der kaasmassa gevonden kunnen worden.

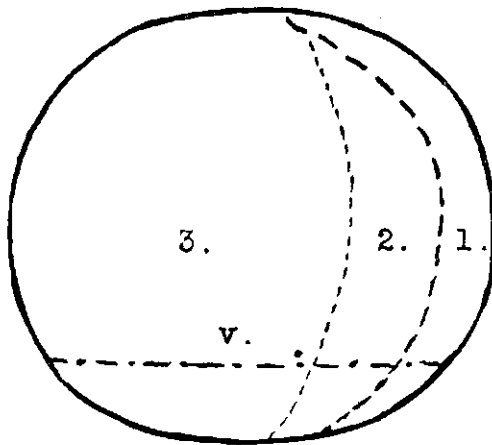
Allereerst moest dus aangetoond worden dat in de kazen nitriet aanwezig was; de reactie met diphenylamine geldt toch èn voor nitraten èn voor nitrieten. Als reagens werd daarvoor gebruikt een met zwavelzuur aangezuurde joodkali-stijfsel-oplossing. Werd nu van de kaas volgens de aangegeven wijze een waterig extract gemaakt, dan kon daarin voor verreweg het grootste aantal gevallen nitriet worden aangetoond. Dat dit niet altijd het geval was behoeft niet te verwonderen daar zowel nitraten als nitrieten zuurstofverbindingen zijn, welke gemakkelijk door sommige bacteriënsoorten, bijv. *Bact. coli-commune* geheel kunnen worden gereduceerd. Bij aanwezigheid van dergelijke bacteriën in de kaasmassa kan het dus voorkomen dat deze oorspronkelijk aanwezige zouten als zoodanig verdwenen zijn.

1) De beste wijze om hiervoor de kaas te extraheeren is stukjes kaas gedurende eenigen tijd uit te koken met weinig water en daarna te filtreeren. Neemt men deze proef met kazen die zonder salpeter bereid zijn, dan valt de reactie steeds negatief uit.

De verdeling der nitrieten over de kaasmassa was zeer typeerend. Hoe de verkleuring ook was, plaatselijk of langs den geheelen omtrek, altijd kwamen de nitrieten gradueel het sterkste voor in het meest gekleurde gedeelte, om dan te verminderen naarmate de verkleuring minder werd en soms geheel te verdwijnen in het niet verkleurde deel der kaas. In sommige gevallen kwamen ook daarin sporen nitriet voor, doch deze waren dan blijkbaar te gering geweest om verkleuring te veroorzaken. Het geheel vertoonde alzoo een diffusieverschijnsel, uitgaande van het buitenste gedeelte der kaasmassa, en we kregen dus een geheel ander beeld te zien met de nitrietreactie, dan bij de genoemde nitraat-nitriet-reactie met diphenylamine. Daar nu de reductie van nitraat tot nitriet onder de gegeven omstandigheden hoogstwaarschijnlijk wel niet totaal zou zijn, zoo kon vermoed worden dat in de kaasmassa naast nitriet ook nog nitraat aanwezig zou zijn, hetgeen het verschil in de resultaten der beide reacties zou kunnen verklaren. Naast de nitrietreactie werd daarom ook de reactie met diphenylamine toegepast, nadat het nitriet uit de oplossing verwijderd was geworden door middel van ureum. Langs dezen weg kon in bijna alle kazen nitraat naast nitriet worden aangetoond. Door combinatie der beide reacties was het dus mogelijk de elkaar bedekkende diffusievelden der beide zouten te scheiden.

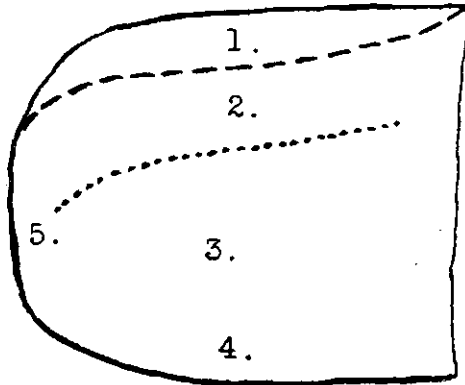
Als voorbeeld hiervan kunnen enkele schematische voorstellingen dienen van het onderzoek van kazen, welke wij uit de praktijk ontvingen.

Edammerkaas met bruinen rand aan één der opstaande zijden.



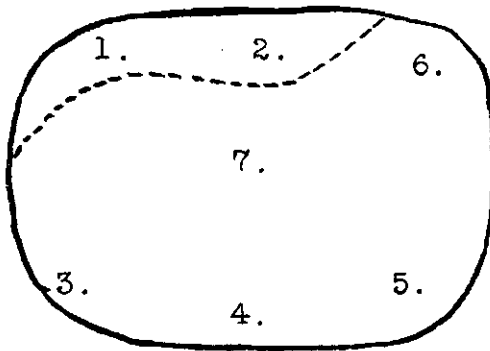
		Nitraten	Nitrieten
1.	bruine rand	sporen	tamelijk veel
2.	groenachtig bruin	sporen	tamelijk veel
3.	normale kleur	sporen	afwezig
v.	volgerrand		

Goudsche kaas met bruinen rand aan één der vlakke zijden.



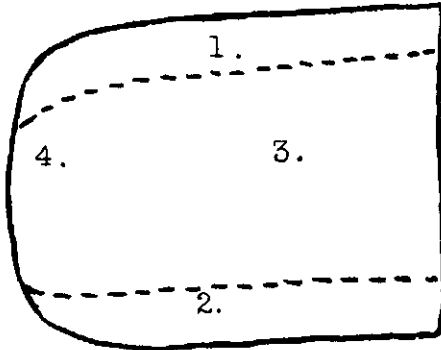
		Nitraten.	Nitrieten.
1. bruine rand	1.	zeer sterk	sterk
2. overgangstint	2.	sterk	tamelijk sterk
3. normaal	3.	tamelijk sterk	afwezig
4. normaal	4.	spoortjes	afwezig
5. normaal	5.	sporen	sporen

Goudsche kaas (klein model) met bruin-groenachtigen rand aan de volgerzijde.



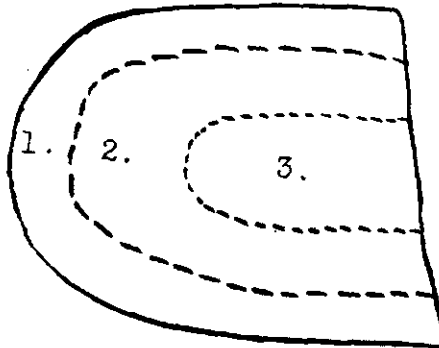
		Nitraten.	Nitrieten.
1. bruine rand	1.	sporen	veel
2. bruin-groene rand	2.	zeer duidelijke sporen	tamelijk veel
3. normaal	3.	veel	afwezig
4. normaal	4.	sterke sporen	afwezig
5. normaal	5.	veel	afwezig
6. normaal	6.	tamelijk veel	afwezig
7. normaal	7.	tamelijk veel	afwezig

Leidsche kaas met rose kleur aan de beide vlakke zijden.



		Nitraten.	Nitrieten.
1. rose rand	1.	tamelijk veel	veel
2. rose rand	2.	tamelijk veel	tamelijk veel
3. normaal	3.	tamelijk veel	geringe spoortjes
4. normaal	4.	tamelijk veel	geringe spoortjes

Goudsche kaas met geelbruinen rand.



		Nitraten.	Nitrieten.
1. geelbruine rand	1.	sporen	tamelijk veel
2. uitvloeiend gekleurd gedeelte	2.	sterke sporen	tamelijk veel
3. normaal	3.	veel	sporen

Zooals bleek was er dus verband tusschen het ontstaan der verkleuringen en het voorkomen van nitrieten in de betreffende kazen.

De vraag deed zich nu voor op welke wijze dit nitriet ontstaan was. In verband met de diffusieverschijnselen lag het meest voor de hand aan te nemen dat de reductie op de korst plaats greep, dus dat daarop bacteriën groeiden, welke nitraten tot nitrieten konden reduceeren. Van twee normale Edammerkazen van de Proefzuivel-

boerderij, welke gemaakt waren op 26 November en 28 December 1923, werd daarom op 15 Januari 1924 wat beslag van de korst gekrabbt en daarvan platen op weigelatine aangelegd. Op 17 Januari werden van de opgekomen kolonies verschillende afgeënt in buizen met ± 10 cc neutrale vleeschbouillon ¹⁾, waaraan $1/10$ % KNO_3 was toegevoegd. Vier dagen later werd op nitriet gereageerd en dit werd gevonden in 7 buizen van de 10, afkomstig van de kaas van 28 December en in 5 buizen van de 10, afkomstig van de kaas van 26 November. Hiermede was dus aangetoond, dat zich op de korst van kaas bacteriën bevinden welke in staat zijn nitraten tot nitrieten te reduceeren.

In reïncultuur gebracht bleken deze bacteriën niet tot één bepaalde soort te behooren; integendeel werd een groote verscheidenheid daar- onder aangetroffen. Sommige vervloeiden de gelatine, andere daarentegen niet. Eenige gaven lichtgele, enkele bruine kolonies, terwijl andere witte kolonies leverden. De vorm was echter dezelfde, daar in alle reïnculturen mono- en duplococcen, soms ook enkele streptococcen, naast elkaar voorkwamen. In grootte was echter verschil op te merken. Haar weerstandsvermogen tegen melkzuur was verschillend. Op weigelatine, waaraan per 30 cc $\frac{1}{4}$ cc normaal melkzuur was toegevoegd, ontstond nog een goede groei, welke echter bij een hoogere zuurgraad voor verschillende stammen afnam; bij 1 cc normaal melkzuur kwamen bijv. 10 stammen van de 14 niet meer op. Bij kazen met een hoogen zuurgraad, die dus z.g. „kort” zijn, treedt daarom de verkleuring moeilijk of niet op, zooals proeven uitwezen waarbij door toevoeging van melksuiker aan de melk de zuurgraad kunstmatig was opgevoerd. Dat een hooge zoutconcentratie verdragen kan worden bleek wel daaruit, dat ook uit verschillende kaaspekels dergelijke bacteriën geïsoleerd konden worden.

Had het onderzoek dus eene verklaring voor het ontstaan van de verkleuring gegeven, thans moest getracht worden het verschijnsel naar verkiezing te voorschijn te roepen. Hierbij is vooral rekening te houden met twee factoren, namelijk wáár in de kaas de salpeter aanwezig is en de vochtigheidstoestand der korst. Is deze te hard, dus te droog, dan zullen toch de bacteriën zich daarop niet kunnen ontwikkelen, hoe gunstig de verdere omstandigheden daarvoor ook mogen zijn.

Wat nu de salpeter betreft, deze kan op tweeërlei manier in de kazen voorkomen, te weten door de geheele massa heen of plaatselijk. Het eerste geval ontstaat wanneer salpeter aan de kaasmelk of bij het nawarmen wordt toegevoegd, het tweede wanneer de kaas op een of andere plek met een salpeteroplossing in aanraking komt, zoodat door diffusie de salpeter dan in de kaasmassa dringt. De wijze nu waarop de salpeter voorkomt beslist erover hoe de verkleuring zal optreden, vooropstellende dat verder aan de levensvoorwaarden der bacteriën voldaan wordt. Bij een plaatselijk voorkomen zal ook de

¹⁾ Bij deze vleeschbouillon was wel $\frac{1}{2}$ % pepton en $\frac{1}{2}$ % NaCl, doch geen dextrose gevoegd.

verkleuring alleen plaatselijk kunnen zijn, terwijl deze onder de geheele korst zal doorloopen indien de salpeter gelijkmatig in de kaas verspreid is. Toch kan ook in dit laatste geval een plaatselijke verkleuring optreden, doch deze ontstaat dan daardoor, dat op slechts een gedeelte der korst bacteriëngroei mogelijk was, in hoofdzaak omdat de vochtigheidstoestand niet overal voldoende was. Dergelijke gevallen kunnen zich bijvoorbeeld voordoen als de kaas langen tijd op één kant op de borden staat. De verdamping is dan uit den aard der zaak daar minder, zoodat dit korstgedeelte vochtiger blijft, waardoor de bacteriën zich daarop goed kunnen ontwikkelen, terwijl dit voor de overige korst niet het geval is.

De invloed welke de vochtigheidstoestand uitoefent bij het ontstaan der verkleuring wordt duidelijk aangetoond door de volgende proef.

Op 20 Maart 1925 werd uit melk, waaraan 0,26% kalisalpeter ¹⁾ was toegevoegd, een Leidsche kaas gemaakt zonder nagelen. Een week later zette men ze op latten, zoodat de lucht van onderen goed toegang had. De bovenkant werd vervolgens steeds vochtig gehouden door middel van nat filtreerpapier. Een maand later bleek bij het doorsnijden dat onder dezen kant een flinke bruine rand gevormd was, terwijl bij het overige gedeelte der kaas geen verkleuring viel op te merken; de korst was daar droog en hard geworden. Door de geheele kaasmassa heen was nog nitraat aanwezig, terwijl in het bruine gedeelte massa nitriet en daaronder iets nitriet werd aangetroffen; overigens kwam dit niet voor. Bij deze proef is dus alleen door regeling van den vochtigheidstoestand toch een plaatselijke verkleuring ontstaan niettegenstaande de salpeter gelijkmatig verspreid voorkwam.

Het optreden van een beperkten bruinen rand bij eenzijdige behandeling der kaas met salpeter is langs experimenteelen weg gemakkelijk na te bootsen. Men behoeft daartoe slechts een kaas gedurende eenige dagen te plaatsen op een stuk filtreerpapier dat flink nat gehouden wordt met een geconcentreerde salpeteroplossing. Nadien veegt men de kaas af en plaatst haar, met den behandelten kant naar boven, in een goed vochtige omgeving. Een maand later ongeveer is dan een flinke bruine rand ontstaan.

Als voorbeeld volgt hieronder de beschrijving van een experiment met eenige kazen van de Proefzuivelboerderij.

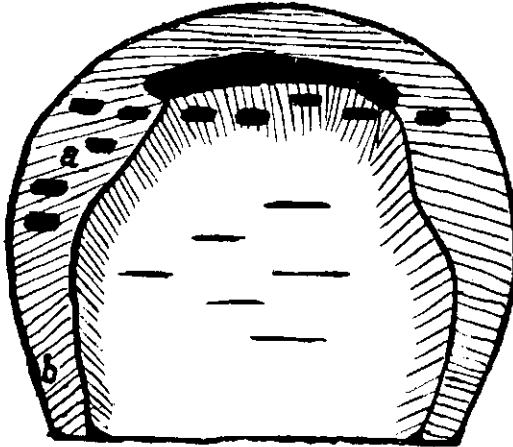
Kaas n ^o .	Gemaakt op:	Geplaatst op KNO ₃ oplossing.	Afgenomen op:	Aantal dagen op KNO ₃ oplossing.	Opengesneden op:
1.	10/10 '23	17/11 '23	24/11 '23	7	11/12 '23
2.	21/11 '23	24/11 '23 direct na de pekeling	1/12 '23	7	11/1 '24
3.	21/11 '23	24/11 '23 direct na de pekeling	10/12 '23	16	11/1 '24
4.	7/11 '23	1/12 '23	17/12 '23	16	3/1 '24

1) De hoeveelheid salpeter welke aan de melk werd toegevoegd is met opzet hoog genomen teneinde de proef goed te doen slagen. Bij een geringe hoeveelheid toch loopt men de kans, dat deze door nevenwerking van andere bacteriën vrij spoedig geheel en al verdwijnt.

De nitraatreductie treedt reeds vrij spoedig op, zoodat reeds na een paar dagen een massa nitriet aanwezig is in het vocht op het filtreerpapier; bij de kazen, direct na de pekeling op het papier gezet, duurt dit echter langer, waarschijnlijk door den invloed van de hoogere zoutconcentratie in de korst.

De kazen worden op de aangegeven data van het papier genomen, afgeveegd en met den behandelenden kant naar boven in een goed vochtige omgeving geplaatst. Bij het opensnijden blijkt dan, dat 1. vlak onder de korst aan de behandelde zijde een iets bruinen rand vertoont en zich daar een scheur bevindt; 2. heeft in geringe mate een bruinen rand, terwijl deze bij 3. goed ontwikkeld is. Het verschil in intensiteit der verkleuring is te verklaren door het verschil in het aantal dagen gedurende welke de kazen aan de inwerking der salpeteroplossing zijn blootgesteld geweest. Behalve de bruine rand komen in alle drie kazen in het verkleurde gedeelte ook nog grootere en kleinere scheuren voor. Deze scheuren staan in verband met een gasontwikkeling die door de behandeling optrad, welke gasontwikkeling soms van dien aard was, dat de korst, na het omkeeren, ter plaatse bol ging staan. Door percussie kon het verloop ervan worden nagegaan. Zoo begon ze bij de kazen 3. en 4. bijvoorbeeld op 19/12 om dan nog een tijd lang toe te nemen.

Onderstaande teekening geeft een voorstelling van wat kaas 3. op de doorsnede vertoonde.



Door het staan na het omkeeren is ze aan de steunzijde plat geworden en scheef gezakt. Het gearceerde gedeelte heeft een roodbruine kleur, vooral bij *a*; vlak onder de korst is het zuivel een paar m.M. diep donkerbruin en van spekkig aanzien. Inwendig is de kaas verder wit geel en de overgang tusschen dit en den bruinen rand is niet scherp, maar gaat via geel; welk gedeelte andersom gearceerd is. Het onderzoek toont verder aan, dat het nitraat door de geheele kaas

gediffundeerd is, doch dat nitriet alleen voorkomt in het verkleurde gedeelte; veel in het bruine, tot zelfs in *b.* en minder in het gele.

De salpeter heeft zich dus geheel en al door de kaas verspreid doordat er tijd daarvoor was, en is óók naar de zijkanten getrokken waar dit zout door de nitraatreducerende bacteriën, op de korst aanwezig, omgezet werd, waardoor ook daar een bruine rand ontstaan is. Dat de nitrieten niet ver in de kaas zijn doorgedrongen vindt zijn grond hierin, dat ze op hun weg worden aangetast en er een grens bestaat waarop de snelheid der diffusie en snelheid van omzetting aan elkaar gelijk zijn.

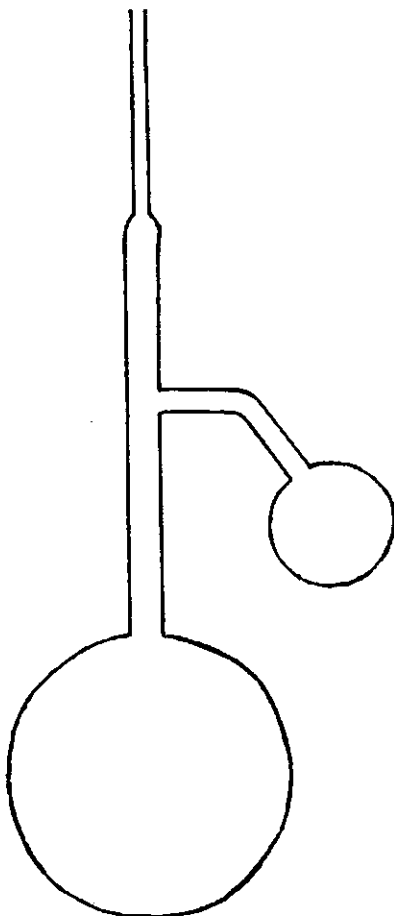
De behandelde kant wordt tijdens het staan op het filtreerpapier plat, doch na het omkeeren bol door de inwendige gasvorming. In het midden der kaas bevinden zich eenige scheurtjes, langs de wanden verscheidene wijdere, en een groote scheur is te zien op een afstand van bijna 1 c.M. van de korst. In de figuur zijn deze scheuren zwart.

Bij kaas 2. is hetzelfde op te merken, maar in geringere mate.

Ten einde de samenstelling van het gas nader te leeren kennen is kaas 4. op 3 Januari 1924 onder water opengemaakt en het vrijkomende gas opgevangen in een omgekeerden met water volgezogen trechter; in totaal wordt aldus 16,2 cc verzameld. De analyse toont aan dat het bestaat uit:

0,4 cc of	2,5 %	O ₂
1,8 „ „	11,1 %	CO ₂
14,0 „ „	86,4 %	N ₂

Hierbij is op te merken dat deze cijfers niet de juiste verhouding kunnen aangeven, daar CO₂ in water oplosbaar is, zoodat het werkelijk percentage hooger zal zijn. Wat de zuurstof betreft, deze is waarschijnlijk afkomstig uit de lucht, welke uitwendig aan de korst is blijven hechten of welke door de dunne afsluitende korstlaag door diffusie in de holten is binnen gedrongen; een kaas als zoodanig toch is inwendig zuurstofvrij. Houden we hiermede rekening en verminderen we het aantal cc opgevangen gas met een hoeveelheid lucht overeenkomend met 0,4 cc O₂, dus 2 cc, dan wordt de samenstelling 1,8 cc CO₂ en 12,4 cc N₂ of respectievelijk 12,7 % en 87,3 %. Voor de oorzaak der gasontwikkeling konden twee mogelijkheden bestaan. Ze kon te wijten zijn aan een ontleding van het nitriet óf door bacteriën, óf door de kaasstof. In de eerstgenoemde richting werd gezocht, doch het gelukte ons niet een specifieke bacteriënsoort te vinden welke nitriet aantast en in elke willekeurige kaas voorkwam. Waar een bacterieele inwerking vrijwel uitgesloten bleek, bleef dus alleen over een chemische inwerking aan te nemen. Teneinde de juistheid daarvan te toetsen zijn in die richting eenige proeven genomen. Daarbij werden langhalzige kolven van ± 100 cc gebruikt welke aan den hals terzijde voorzien waren van een glazen bol van ± 15 cc, terwijl de hals uitliep in een aangeblazen nauwere buis.



Nevenstaande figuur geeft het apparaatje weer.

In de kolven werden de verschillende stoffen gebracht welke op de reactie met nitriet onderzocht zouden worden, in casu melkzure kalk en caseïne, waarvan de eerste in een 2½ % waterige oplossing. De gebruikte hoeveelheden waren 10 cc. der oplossing van calciumlactaat en 2 Gr. van de caseïne, bereid volgens methode-HAMMARSTEN. Toegevoegd werd dan 10 cc. ½ norm. melkzuur teneinde de zure reactie te laten ontstaan door hetzelfde zuur dat in kaas voorkomt. In den kleineren bol werd vervolgens, door middel van een pipet waarvan de punt iets omgebogen was, 7 cc. gebracht van een waterige 10 % Kaliumnitrietoplossing. Al de hoeveelheden werden willekeurig genomen, berustten dus niet op theoretische beschouwingen.

De aldus gevulde toestelletjes werden vervolgens luchtledig gepompt en toegesmolten, terwijl ze in een waterbad van 30° C. waren geplaatst, teneinde de laatste hoeveelheid lucht door den damp van de bij lagen druk kokende vloeistof te verdringen. Na afkoeling werd

dan door zwenken de kaliumnitrietoplossing in den grooteren bol overgebracht.

Zoals van zelf spreekt werd bij de proeven alles gesteriliseerd teneinde elke bacterieele nevenwerking uit te sluiten.

Na 3 tot 5 weken bij kamertemperatuur gestaan te hebben werden de toestelletjes onder water geopend en de gassen opgevangen in een met water gevulden omgekeerden trechter.

De analyses toonden aan dat melkzuur alleen met nitriet weinig stikstof (in 2 gevallen 1,8 en 1,4 cc) ¹⁾ en geen koolzuur leverde, terwijl een toevoeging van melkzure kalk hetzelfde gaf. De reactie verliep echter anders zoodra caseïne aanwezig was; dan kwam veel stikstof vrij, zooals te verwachten was, en ontstond daarnaast koolzuur.

1) Feitelijk zou hierbij geen stikstof hebben moeten ontstaan en is deze dus hoogst waarschijnlijk te wijten aan onzuiverheden in de chemicaliën.

Zoo leverde caseïne met melkzure kalk en melkzuur te zamen bijv. bij drie proeven 36,2, 41,4 en 40,3 cc stikstof en respectievelijk 3,2, 3,4 en 3,4 cc koolzuur, terwijl de duur van inwerking 15 en 26 dagen was geweest. Hierbij zij nog opgemerkt dat de caseïne langzamerhand donkerbruin van kleur werd. Uit het resultaat van deze proeven mag dus afgeleid worden, dat, naast het vormen van N_2 , ook de CO_2 -ontwikkeling in de kazen een gevolg is van de reactie van het nitriet op de caseïne. Ook deze reactie kan, naast het voorkomen van *Bact. coli*, oorzaak zijn, dat men in de kazen soms geen nitriet meer vindt.

Er bleef nu nog over na te gaan of het kaaskleursel bij de verkleuring een rol speelde. Vooral het ontstaan van de geel-groene rand scheen ons toe in die richting te wijzen. Er werden daarom kazen gemaakt zonder kleursel, en andere uit dezelfde melk waaraan kleursel van verschillende herkomst was toegevoegd; salpeter werd bij de bereiding niet gebruikt. Een week later zet men ze op filtreerpapier, gedrenkt met een geconcentreerde salpeteroplossing, waarop ze respectievelijk 1, 2 of 3 weken blijven. Na een paar maanden blijkt bij het doorsnijden der kazen dat alle kazen, onverschillig of ze al dan niet kleursel bevatten, een donkerbruinen rand vertoonen waarin holten voorkomen, welke rand uitvloeit in een groen-gele, gevolgd door een rose verkleuring.

Bij deze proeven is dus een invloed van het kleursel niet naar voren gekomen.

Vatten we nu in korte bewoordingen het onderzoek samen dan kan gezegd worden dat: *de bruine rand bij kazen ontstaat door overmatig gebruik van salpeter of doordat ze op de een of andere wijze plaatselijk met salpeter in aanraking komen.*

Voorzichtigheid bij het gebruik van salpeter is daarom zeer aangeraden, hetgeen men in de praktijk blijkbaar wel eens uit het oog verliest. In verband hiermede komt de vraag op, of toevoeging van salpeter bij het nawarmen, hetgeen dan uit een economisch oogpunt geschiedt, wel verkieselijk is. Daarbij moet deze door diffusie in de wrongeldeeltjes doordringen en ontstaat dus het gevaar dat de verdeling over de kaasmassa niet gelijkmatig is en ook licht te veel wordt toegevoegd.

Alvorens te eindigen zij er nog op gewezen dat het onderzoek tevens een verklaring geeft voor het ontstaan van de grauwe verkleuring van de korst van kazen, welke met salpeter zijn bereid zoals dat in de praktijk dikwijls wordt opgemerkt.

FOTO'S.

- Fig. 1. Kaas met salpeterrand uit de praktijk.
- Fig. 2. Proefkaas \pm 1 jaar oud, met salpeter bereid, waarbij een bruine rand ontstaan is.
- Fig. 3. Proefkaas \pm 1 jaar oud, uit dezelfde melk zonder salpeter. De bruine rand ontbreekt. De groote scheuren in de beide kazen zijn ontstaan doordat deze zoo oud waren.

- Fig. 4. Proefkaas zonder kleursel of salpeter, na het pekelen 2 weken lang geplaatst op een salpeteroplossing; na 3 maanden opengesneden; sterk bruine rand met spleten. In enkele van deze is schimmelwoekering opgetreden doordat ze in verbinding zijn gekomen met de buitenlucht.
- Fig. 5. Proefkaas uit dezelfde melk zonder salpeter, doch met kleursel; na het pekelen 2 weken lang geplaatst op een salpeteroplossing. Verder alsvoren. Ook bij deze kaas een sterk bruine rand met openingen, waarvan eenige met schimmelvegetatie.

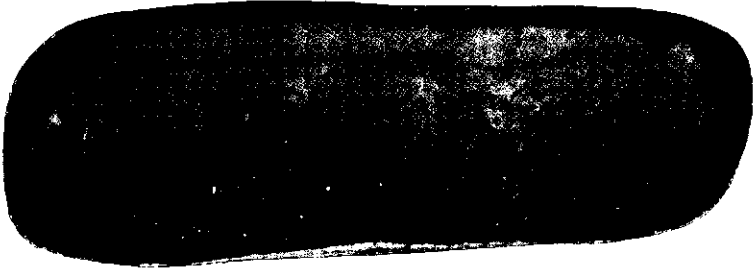


Fig. I.

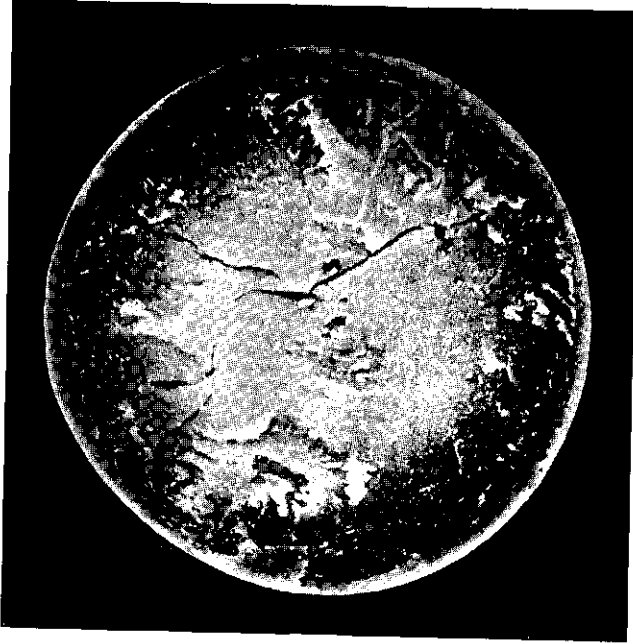


FIG. II.



FIG. III.



Fig. V.



Fig. IV.

Ueber die Bildung von Salpeterrändern in Käsen.

(Kurze Zusammenfassung.)

Aus der Praxis empfangen wir öfters Käse, wobei unter der Kruste die Käsemasse eine abweichende Farbe zeigte. Meistens war diese braunrot, auslaufend in grün-gelb, aber oft kam nur grün-gelb vor, ausnahmsweise nur rose oder hell schwarz. Die Grösze des verfärbten Randes war ebenso sehr wechselnd. Bei einigen Käsen lief er unter der ganzen Kruste hindurch während bei anderen letzteres nur für einen grösseren oder kleineren Teil der Fall war. Auch in der Dicke war sehr viel Verschiedenheit zu beobachten, sie konnte von $\frac{1}{4}$ bis einige Centimeter betragen. Fig. 1 gibt ein Bild eines derartigen Käses. In den verfärbten Rändern kamen zugleich Löcher vor, welche einer Gasbildung zugeschrieben werden sollten. Schon bald erhob sich die Vermutung, dass der bei der Käsefabrikation ziemlich allgemein gebräuchliche Salpeter eine Rolle spielen könnte.

Wirklich zeigten dergleiche Käse die Diphenylaminreaktion, nur stimmte die Verteilung der Intensität in der Käsemasse nicht überein mit der Farbverteilung. Ueberdies kam noch dazu dass verschiedene Käse diese Reaktion auch ziemlich stark in dem nicht verfärbten Teile zeigten. Uebrigens ist von einer chemischen Einwirkung des Salpeters auf der Käsestoff nichts bekannt. Diese Tatsachen führten uns dazu die Lösung in eine andere Richtung zu suchen. Bekanntlich ist Salpeter eine Substanz, die von verschiedenen Bakterienarten zu Nitrit reduziert wird und da der Käse in mancher Hinsicht ein ausgezeichneter Nährboden ist, so wäre es möglich, dass sich auf der Kruste oder im Käseteig dergleiche Bakterien vorfinden würden. Da Nitrit bei saurer Reaktion im Stande ist mit Eiweissstoffen, weil diese Aminverbindungen sind, zu reagieren, so wäre in dieser Weise vielleicht eine Erklärung für die eigentümliche Verfärbung der Käsemasse zu geben.

Es zeigte sich nun bald, dass die Käse nebst Nitrat nicht nur Nitrit enthielten sondern auch dass die Stärke der Nitrit Reaktion parallel lief mit der Intensität der Verfärbung, sodass es offenbar eine Zusammenhang gab zwischen dem Auftreten der Färbung und der Anwesenheit des Nitrats. Es fragte sich nun in welcher Weise das Nitrit entstand.

In Zusammenhang mit der Verteilung des Nitrats in der Käsemasse war es am meisten statthaft, dass die Reduktion auf der Kruste geschah. Mit dieser Anzeige gelang es denn auch von der Kruste irgend einiger Käse Bakterien zu isolieren, die im Stande waren Nitrat zu Nitrit zu reduzieren.

Nun sollte noch versucht werden die Verfärbung nach belieben hervor zu rufen. Dies wurde dadurch erreicht dass man einen Käse,

ohne Salpeter angefertigt, auf eine Filterscheibe stellte, welche getränkt war mit einer konzentrierten Salpeterlösung, oder indem man einen Käse, mit Salpeter angefertigt, ganz feucht aufbewahrte, damit die Bakterien sich gut entwickeln könnten. Nach einiger Zeit entstand dann die Verfärbung.

Es ergab sich dasz die Löcher welche auch bei diesen Versuchen hervortraten Gas enthielten, das aus Stickstoff und Kohlensäure zusammengesetzt war. Wie Versuche zeigten entsteht nebst Stickstoff auch letztere Säure bei der Einwirkung des Nitrits auf das Kasein. Ein Einflusz der zugesetzten Käsefarbe bei der Verfärbung war nich zu bemerken.
