

Ars conservandi Salmones Truttas

De kunst van het bewaren van zalmforel

Namen:	Martijn Verhagen & Joris Broeders
Klas:	6G
Profielwerkstuk:	Biologie & Scheikunde
Begeleider:	ir. W.M. Schoorel
Biologiedocent:	drs. R.R.M. de Vries
Scheikundedocent:	ir. W.M. Schoorel
Inleverdatum:	13 december 2001

Inhoudsopgave

Voorwoord

Inleiding

Oriëntatie

Hoofdstuk 1 Wat is bederf?

Hoofdstuk 2 Wie of wat veroorzaakt bederf in het algemeen en in het bijzonder bij vis?

Hoofdstuk 3 Welke factoren zijn van belang voor het bederf van vis?

Hoofdstuk 4 Welke methoden van conservering van vis zijn gangbaar?

Onderzoek

Hoofdstuk 1 Hypothese

Hoofdstuk 2 De opzet van de proeven

Hoofdstuk 3 Waarnemingen

Hoofdstuk 4 Conclusie

Evaluatie en bijlagen

Productevaluatie

Procesevaluatie

Bronnenlijst

Bijlage: Waarnemingen

Bijlage: Correspondentie Wageningen

Bijlage: Plan van aanpak

Voorwoord

We hebben bij de keuze van een onderwerp gezocht naar een mogelijkheid om scheikunde met biologie te combineren. Ook wilden we het onderzoek zelfstandig uit kunnen voeren, dus niet slechts toekijken bij verrichtingen van anderen, zoals we dat in onze vorige praktische opdracht hebben gedaan. Na veel twijfelen en brainstormen, kwamen we uiteindelijk uit bij conservering. Dit raakvlakken met zowel scheikunde als biologie en het is goed mogelijk om zelf producten te conserveren. Verder sprak het ons aan omdat we het leuk vonden iets met bacteriën en schimmels te doen en het is ook leuk om de moeilijkheden die voorafgaan aan alledaagse zekerheden (onbedorven voedsel) eens van dichtbij te bekijken. Vis was vervolgens een logische keuze omdat het in de praktijk al op veel verschillende manieren geconserveerd wordt en bovendien snel bederft: dit maakt het eenvoudiger om binnen een redelijk korte tijd, grote verschillen in effectiviteit van conserveringsmethoden op te sporen. Verder kregen we nu de gelegenheid om onze grote hobby fotografie veelvuldig uit te oefenen (zie de 126 foto's in de bijlage). We hadden ons alleen niet gerealiseerd welke gevolgen deze keuze voor onze maag en vriendenkring zou hebben (We hadden niet te klagen over de mate van bederf). De climax van deze ervaringen bereikten wij op de laatste dag toen alle potjes opengingen. Toen Joris als eerste aan het potje rook en bijna door de grond ging van de maagschokken, verklaarde hij dat het wel mee viel met de geur. Vervolgens inhaleerde Martijn in zijn naïviteit de helse geuren diep...

Er zijn een aantal mensen die ons met grote toewijding hebben bijgestaan in onze strijd tegen onwetendheid. Wij hebben de uitstekende begeleiding van ir. W.M. Schoorel mogen genieten en ook voor kleine dingen als een giftige oplossing of een literje zuurstof konden we altijd bij hem aankloppen. Ook willen we graag onze docent biologie drs. R.R.M. de Vries en de technisch onderwijsassistent H.P.L.M Hamers bedanken voor hun hulp. Dit hele onderzoek was niet mogelijk geweest zonder de toestemming van drs. M.A. Weenen om zijn personal computer te gebruiken. Tot slot hebben wij ook veel waardevolle informatie gekregen van enkele studenten van de Universiteit Wageningen te weten Petra Naber, Jorit Dekker en de visexpert van het team: Kasper Hettinga.

Inleiding

Bij dit onderzoek hebben wij ons beziggehouden met de conservering van vis. We hebben getracht te doorgronden hoe je vis het best kan conserveren. Wij beschikten echter niet over de geavanceerde apparatuur waarmee tegenwoordig de houdbaarheidsdatum van verschillende producten wordt verlengd, zoals bijvoorbeeld apparatuur om voeding te bestralen. Daarom hebben wij onze hoofdvraag wat nauwer gemaakt: Hoe kun je vis het beste conserveren buiten een laboratorium? Bij een dergelijk onderzoek, konden we alle conserveringsmethoden ook daadwerkelijk zelf toepassen. Het eerste deel van het werkstuk heeft betrekking op onze oriëntatie op het onderwerp. Hierin komen de volgende deelvragen aan de orde:

- Wat is bederf?
- Wie of wat veroorzaakt bederf?
- Welke factoren zijn van belang voor het bederf van vis?
- Welke methoden van conservering van vis zijn gangbaar?

We moesten enig inzicht in deze zaken krijgen, voordat wij daadwerkelijk aan ons onderzoek konden beginnen. Het tweede deel van het werkstuk zal het eigenlijke onderzoek beslaan. Wij hebben hierbij zelf de vis op verschillende manieren geconserveerd en bewaard in petri-schaaltjes of potjes om vervolgens het eventuele bederf in de daaropvolgende periode van vier weken te registreren. De omstandigheden zijn gelijk, behalve daar waar zij de conserveringsmethode betreffen. Onze waarnemingen die op papier zijn gezet worden ondersteund door fotografisch beeldmateriaal, dat wij verkregen hebben met behulp van de digitale camera. Dit is terug te vinden op de bijgeleverde cd-rom.

In deel drie zullen wij ten slotte onze bevindingen samenvatten en proberen de hoofdvraag te beantwoorden.

Oriëntatie

Hoofdstuk 1 Wat is bederf?

Bederf is de kwaliteitsachteruitgang en ten slotte het geheel onbruikbaar worden van goederen. Het gaat hierbij meestal om voedingsmiddelen, maar ook wel om geneesmiddelen. Deze kwaliteitsachteruitgang is vaak het gevolg van aantasting door bacteriën of schimmels, maar kan ook het gevolg zijn van enzymatische of andere chemische reacties (zie hoofdstuk 2). Het resultaat hiervan kan alleen maar een smaakverandering zijn, maar het is ook mogelijk dat er in het product stoffen voor komen die schadelijk zijn voor de gezondheid.

Tekenen van bederf zijn:

- onaangename geur (de typische geuren van verrotting en schimmel of een bittere geur)
- zichtbare veranderingen (in de vorm van abnormale vertroebelingen, kleurveranderingen, met het oog waarneembare microben en veranderingen in consistentie, bijvoorbeeld van vast naar vloeibaar.)
- onaangename smaak
- ontploffing van verpakking (door gasvorming)



Zou deze vis bedorven zijn?

Hoofdstuk 2 Wie of wat veroorzaakt bederf in het algemeen en in het bijzonder bij vis?

Bederf kan optreden als gevolg van verschillende soorten oorzaken:

Fysische oorzaken

Een voorbeeld hiervan is bevrozing. De aardappel is een van de producten die hierdoor ongenietbaar worden. Een ander voorbeeld is vis: wanneer je vis te langzaam bevriest, vormen zich grotere ijskristallen in de ruimte tussen de cellen, die daardoor kapot geprikt worden. Dit zorgt voor uitdroging van de vis en bij ontthooing zakt de vis een beetje in elkaar. Een ander voorbeeld is het uitzakken van een saus. Aan fysisch bederf komen dus geen organismen te pas zoals dat bij biologisch bederf het geval is en er vinden op moleculair niveau geen veranderingen plaats, zoals dat bij chemisch bederf en bij biochemisch bederf het geval is.

Chemische oorzaken.

Bij deze vorm van bederf vinden er veranderingen plaats in de stoffen waaruit het product is opgebouwd; de moleculen veranderen. Het belangrijkste voorbeeld hiervan is oxidatie (oxidatief bederf). In het dagelijks leven zie je dit bijvoorbeeld in het ranzig worden van vet.

Biochemische oorzaken.

Deze spelen alleen een rol wanneer het product een onderdeel van een plant of dier is. Onmiddellijk nadat de plant is geoogst of het dier is gedood, vinden hierin allerlei veranderingen plaats. Meestal zijn dit veranderingen in smaak en kleur, die je bijvoorbeeld bij vlees en vis kunt waarnemen. Deze worden veroorzaakt door de daarin van nature voorkomende enzymen. *Enzymen* zijn biokatalysatoren, d.w.z. versnellers van (bio)chemische processen die zich in levende organismen afspelen. Als het leven in een organisme wordt veranderd of onderbroken, vertonen de enzymen een ongecontroleerd gedrag, waarbij deeltjes worden gemaakt, veranderd of vernietigd. Dit kan veranderingen in de kwaliteit van het product teweeg brengen.

Bij vis speelt deze vorm van bederf een belangrijke rol; de ingewanden van de vis bevatten krachtige spijsverteringsenzymen die het vlees aantasten.

Biologische oorzaken

Naast knaagdieren, insecten e.d. zijn vooral micro-organismen zoals schimmels en bacteriën als veroorzakers van bederf te noemen. Bij dit microbiologische bederf moet onderscheid gemaakt worden tussen micro-organismen die giftige stofwisselingsproducten (toxinen) afscheiden, zoals *Clostridium botulinum* en *Staphylococcus aureus*, en micro-organismen die gisting of rotting veroorzaken. Rotting houdt in dat micro-organismen eiwitten afbreken en de afbraakproducten omzetten. Gisting is de ontleding van verbindingen met grote moleculen in verbindingen met kleine moleculen, die veroorzaakt wordt door micro-organismen. Dit gebeurt zonder zuurstof. Gisting is dus eigenlijk gewoon rotting door gistcellen

Vis kan door zowel aerobe bacteriën (bacteriën die zuurstof nodig hebben) als anaërobe bacteriën (bacteriën die geen zuurstof nodig hebben en er in sommige gevallen zelfs niet tegen kunnen) worden bedorven. Het aerobe bederf wordt gekenmerkt door verandering in kleur, slijmvorming en een onaangename geur. De slijmvorming op de vis bestaat uit suikers die door veel bacteriën worden gevormd. Welke bacterie is moeilijk te zeggen, omdat er meerdere slijmvormende bacteriën op vis voorkomen. In dit slijm zijn ook enzymen aanwezig om de vis te verteren (waardoor de bacteriën weer meer voedingsstoffen krijgen om verder te groeien). Hierin zitten bepaalde vet en eiwit afbrekende enzymen. Deze afbraak zorgt voor zowel kleurverandering als stank.

Mechanische beschadiging

Het gaat hierbij om beschadiging van de structuur van het product. Een voorbeeld hiervan is een appel die kapot valt. Het verschil tussen mechanische beschadiging en fysisch bederf is het volgende: Bij fysisch bederf zoals bevrozing wordt elke cel in theorie aangevallen. Met mechanische beschadiging beschadigt je een klein deel van de cellen heel erg. De rest blijft hierbij relatief onbeschadigd

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Het is soms moeilijk een onderscheid te maken tussen enzymatisch bederf en bederf veroorzaakt door micro-organismen, daar ook dit laatste via enzymwerkingen verloopt.

Niet alle vormen van bederf spelen een even grote rol bij het bederf van vis. Chemische vetoxidatie gebeurt wel, maar dit gaat langzamer dan alle andere vormen van bederf. Of dit van belang is, hangt ook af van het wel of niet erg vet zijn van de vis. Fysisch bederf komt wel voor, zoals al eerder is beschreven, maar het gaat hier eigenlijk om een luxe probleem. De belangrijkste oorzaken van bederf bij vis zijn microbiel bederf en enzymatisch bederf. Daarom besteden we hier nog wat extra aandacht aan.

Micro-organismen

Micro-organismen zitten van nature altijd in ons voedsel. Zoals de naam al zegt zijn de individuen heel klein. Micro-organismen kunnen schade veroorzaken door gisting of rotting of door het uitscheiden van giftige stofwisselingsproducten. Biologisch gezien zijn de schadelijke micro-organismen te verdelen in twee groepen: paddestoelen en bacteriën. In de groep paddestoelen zijn de schimmels en de gisten de belangrijkste micro-organismen. Schimmels bezitten geen bladgroen en kunnen daarom het koolstofdioxide uit de lucht niet gebruiken om hun eigen organische stoffen te maken. Zij zijn wat betreft hun voedsel aangewezen op andere organismen en het zijn dan ook saprofyten (wat inhoudt dat zij groeien op dood organisch materiaal) of parasieten (groeïend op levende organismen). De saprofyten zullen dus veroorzakers van bederf zijn; ons voedsel bestaat namelijk uit dood organisch materiaal en is daarom ook een bron voor saprofyten. Van de schimmels die giftige stoffen voortbrengen en daardoor een product ongeschikt voor consumptie maken, zijn *Asperillus*, *Penicilium* en *Mucor mucedo* zeer veel voorkomende soorten die op bijna alle soorten voedsel voorkomen. De mycotoxinen die deze soorten uitscheiden zijn in geringe hoeveelheden giftig en kankerverwekkend. Omdat ze zich diep en onzichtbaar vertakken in het voedsel zijn voedingsmiddelen die slechts gedeeltelijk beschimmeld zijn, altijd geheel ongeschikt voor consumptie (de giftige stoffen bevinden zich in het gehele product).

De gisten spelen waarschijnlijk niet zo'n belangrijke rol bij het bederf van vis: zij bederven vooral voedsel dat veel suiker bevat.

Er bestaan verschillende typen bacteriën: chemotrofe bacteriën, deze bacteriën halen hun energie door het oxideren van stoffen, ook zijn er fototrofe bacteriën die lichtenergie gebruiken. Deze bacteriën kunnen zelf organische stoffen maken. Bij bederf spelen ze echter geen rol, omdat ze de organische stoffen uit bijvoorbeeld ons voedsel niet nodig hebben. De meeste bacteriën zijn echter saprofyten en zijn afhankelijk van de organische stoffen die anderen produceren. Deze saprofytische bacteriën zijn om dezelfde reden als de saprofytische schimmels een oorzaak van bederf.

Enzymen

Ook enzymen spelen een rol bij bederf. Enzymen zijn biokatalysatoren, d.w.z. versnellers van (bio)chemische processen die zich in levende organismen afspelen. Als het leven in een organisme wordt veranderd of onderbroken, vertonen de enzymen een ongecontroleerd gedrag, waarbij deeltjes worden gemaakt, veranderd of vernietigd. Dit kan veranderingen in de kwaliteit van het product teweeg brengen.

Bij vis speelt deze vorm van bederf een belangrijke rol; de ingewanden van de vis bevatten krachtige spijsverteringsenzymen die het vlees aantasten.

Hoofdstuk 3 Welke factoren zijn van belang voor het bederf van vis?

Er zijn een aantal factoren die van belang zijn voor de vermenigvuldiging en het overleven van micro-organismen en enzymen:

Factoren die van belang zijn voor micro-organismen

1. Voedingstoffen

Essentieel voor groei zijn suikers, vitamines, vetten, eiwitten, mineralen (fosfor, kalium en calcium) en elementen zoals ijzer. Deze stoffen komen in de meeste voedingsmiddelen voor.

2 Temperatuur

Ieder micro-organisme heeft een bepaalde temperatuur, waarbij het zich het snelst kan vermeerderen. Er zijn drie groepen: de psychrofiële (5 tot 20 graden Celcius), de mesofiele (20 tot 50 graden Celcius) en de thermofiele micro-organismen (50 tot 60 graden Celcius). Deze indeling heeft met name betrekking op bacteriën. Omdat de meeste vis in een koud milieu voorkomt, zitten hier veel psychrofiële bacteriën op. De groeisnelheid van de meeste bacteriën is, mits de temperatuur geen extreme waarden aanneemt, evenredig met het kwadraat van de temperatuur. Gisten en schimmels laten zich in hun groei minder beïnvloeden door temperatuur. Schimmels kunnen ook sporen (een vorm die onder gunstige omstandigheden weer tot schimmel uit kan groeien) vormen, maar deze zijn niet echt te vergelijken met die van bacteriën en zijn minder goed bestand tegen hitte.

Lage temperaturen houden bacteriegroei tegen, maar bieden geen garantie wat betreft de afwezigheid van bacteriën in het voedsel. Er zijn bacteriën bekend die in spore vorm zelfs temperaturen tot -150 graden Celsius kunnen overleven. Een spore is de persistente overlevingsvorm van de bacterie. Deze sporen vormt een bacterie o.a. wanneer de voedingsomstandigheden ongunstig worden; de cel sterft dan af en de spore komt vrij. Het is een sterk ingedroogde cel die omgeven is met een dikke ondoordringbare wand, die goed bestand is tegen uitdroging en hitteresistent is. Wanneer er dan weer een vochtige en een voedselrijke omgeving ontstaat, dan groeien de sporen uit tot een nieuwe cel. Bij temperaturen rond de 0 graden Celsius worden de activiteiten en vermenigvuldiging van micro-organismen vertraagd, maar niet gestopt. Bij een temperatuur van -18 graden Celsius, worden micro-organismen volledig geneutraliseerd. Ze worden echter niet vernietigd, alleen hun activiteiten worden onderbroken. Niet alleen door de lage temperatuur, maar ook door het gebrek aan vocht dat hierdoor ontstaat wordt de groei geremd. Bij hoge temperaturen tot honderd graden Celsius worden bijna alle micro-organismen die voedingsmiddelen aantasten vernietigd, doordat de celwanden worden afgebroken.

De sporen worden ook vernietigd, wanneer ze geruime tijd afwisselend aan een temperatuur van hoger dan 120 °C en een normale temperatuur worden blootgesteld. Bij de normale omstandigheden, groeien de sporen namelijk weer uit tot gewone bacteriën, die bij de volgende verhitting gedood worden.

3 Water

Water is een onmisbare bouwstof voor micro-organismen, een cel bestaat immers voor 90 % uit water. Niet de hoeveelheid water in het product is de factor die de groei beïnvloedt, maar de waterdampspanning op het product. Dit is een maat voor het water dat voor micro-organismen beschikbaar is; het "vrije" water. De waarde wordt gedefinieerd als de hoeveelheid water activiteit (Aw-waarde). De wateractiviteit heeft betrekking op het aantal vrije watermoleculen dat een bacterie in een waterige oplossing ter beschikking heeft. Deze wateractiviteit is gerelateerd aan de zoutconcentratie, want zoutionen omringen zich met watermoleculen en daardoor blijven er minder vrije watermoleculen over. De wateractiviteit in zuiver water is heel hoog en in watervrij glucose is de waarde nul.

De meeste micro-organismen groeien optimaal bij een hele hoge wateractiviteit. De wateractiviteit wordt beïnvloed door het vochtgehalte van het product, de temperatuur en het waterbindend vermogen van het product. De Aw-waarde van vis is heel hoog (tussen de 1,0 en de 0,95) en de groeiomstandigheden voor bacteriën zijn hierdoor optimaal. Schimmels kunnen goed tegen een lage Aw-waarde en daarom kunnen ze zich soms in een droog milieu ontwikkelen.

4 Zuurgraad

De meeste micro-organismen hebben een zuurgraadoptimum bij een pH van 7, maar ook bij een pH tussen 6 en 8 groeien ze goed. Wanneer de pH extremere waarden aanneemt dan leggen veel bacteriën het loodje. Gisten en schimmels groeien in het algemeen goed bij een lage pH (ze zijn zuurtolerant of acidofiel) en er zijn ook bacteriën die hele een hele hoge pH kunnen doorstaan (deze worden alkalofiel genoemd). De meeste verse vissoorten hebben een pH van 7 en dit is het optimum van veel bacteriën, zoals Salmonella, Capylobacter en Staphylococcus aureus. Bovendien kunnen zuren ook in de bacteriecel doordringen en de cel van binnenuit verzuren of de stofwisseling stil leggen. Of het zuur in de cel kan binnendringen is afhankelijk van de zuurgraad en de structuur van het zuur. Melkzuur zal al bij een

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

hogere pH in de cel kunnen komen en daar de stofwisseling stil leggen dan azijnzuur. Voor hetzelfde effect met azijnzuur heb je een veel lagere pH (en dus een zuurder product) nodig. Sorbinezuur werkt vooral tegen gisten en schimmels, de meeste andere zuren juist tegen bacteriën.

5 Zuurstof

De micro-organismen kunnen naar verschillen in behoefte aan zuurstof worden ingedeeld:

- Strikt aëroob: Deze micro-organismen hebben absoluut zuurstof nodig. Bijvoorbeeld *Pseudomonas*, *Bacillus* en schimmels. *Pseudomonas* is een bacterie die veel voorkomt op vis.
- Strikt anaëroob: Deze micro-organismen kunnen zuurstof niet verdragen, sommige stoppen met groeien, anderen gaan zelfs dood, wanneer er zuurstof in hun omgeving is. Een voorbeeld hiervan is de *Clostridium*.
- Facultatief anaëroob: Deze bacteriën kunnen zowel met als zonder zuurstof leven. De meeste bacteriën hebben deze eigenschap.

De meeste micro-organismen gebruiken echter wel zuurstof. Schimmels zijn altijd aëroob.

6 Osmotische waarde

Bacteriën kunnen niet in een hypertoon milieu leven. Dit houdt in dat de concentratie van opgeloste stoffen niet hoger mag zijn in de omgeving van de bacterie, dan binnen de bacterie. Als dit wel het geval is, wordt er vloeistof uit de bacterie onttrokken, waardoor zijn interne milieu verstoord wordt. Schimmels lijden hier veel minder onder; zij zijn wil in staat om bijna al hun vocht vast te houden in een hypertone omgeving. Hun celwandstructuur zorgt voor goede afsluiting van celinhoud t.o.v.

buitenwereld. Daarnaast is het milieu in een schimmel ook van een redelijk hoog osmolariteit, wat de verliezen nog verder beperkt.

7 Giftige stoffen

Zoals alle levende organismen gaan ook micro-organismen dood wanneer er veel giftige stoffen in hun omgeving aanwezig zijn. Een voorbeeld van een giftige stof is alcohol

Het is altijd mogelijk dat er ondanks extreme omstandigheden wat de bovenstaande factoren betreft, toch nog micro-organismen leven. Er zijn namelijk enkele soorten die juist alleen bij dergelijke omstandigheden gedijen. Zo zijn er bijvoorbeeld osmofiele (alleen levend in een suikerrijk milieu), halofiele (alleen levend in een zoutrijk milieu) en xerofiele (alleen levend in een vochtarm milieu) micro-organismen.

Factoren die van belang zijn voor enzymen

Het gedrag van enzymen is afhankelijk van de temperatuur en de zuurgraad. Door hoge temperatuur denatureren de enzymen (d.w.z. dat zij hun driedimensionale vorm blijvend verliezen en daardoor niet meer als katalysator kunnen functioneren). Dit gebeurt al sterk vanaf 70°C. Hoewel de werking van enzymen bij lage temperaturen langzamer verloopt, blijven zij tot ver beneden het vriespunt (-20 °C tot -40 °C) nog actief.

Bij een pH die sterk afwijkt van de optimumwaarde (d.w.z. de waarde waarbij het enzym in een normaal functionerend organisme zijn werk doet) wordt de activiteit bijna stilgelegd

Hoofdstuk 4 Welke methoden van conservering van vis zijn gangbaar?

Vis is een product dat moeilijk te conserveren is. Dit komt doordat de bacteriën op de vis psychrofiel (koud minnend) zijn. Dus bij koeling, zelfs rond het vriespunt, zich kunnen vermeerderen. Ook kunnen bacteriën de losse structuur van vis gemakkelijk binnendringen. Bovendien bevat een vis veel eiwit, een belangrijke voedingstof voor veel bacteriën. Daar komt nog bij dat verse vis een constante pH-waarde heeft van 7. Deze is erg gunstig voor bacterie groei.

Een product conserveren betekent de totale vernietiging van micro-organismen en enzymen (door sterilisatie), of het onderdrukken van de activiteiten van de micro-organismen, zoals het stoppen van de kolonisatie en de metabolische dissimilatie door schimmels (door invriezen en bewaren onder vacuüm of in een atmosfeer van koolstofdioxide). Op zijn minst moet de ontwikkeling en de stofwisseling van micro-organismen worden geremd (verminderen wateractiviteit)

Ook door het creëren van een voor de bacteriën extreme osmotische waarde van de omgeving, door zouten of zoeten (en beter nog: een combinatie van deze vormen), wordt de groei geremd of zelfs volledig gestopt. Het is het beste om verschillende vormen van conservering op een product toe te passen want de kans dat er een bacterie in het voedsel aanwezig is die tegen alle extreme omstandigheden bestand is, wordt zo steeds kleiner. Voor elke conserveringsmethode op zich zijn er namelijk soorten bekend, die onder deze omstandigheden toch nog kunnen functioneren.

De gangbare methoden om vis te conserveren zijn invriezen, pasteuriseren, zuren en vervolgens in een glas bewaren, vacuüm verpakken, atmosfeer aanpassen, inblikken, pekelen, vriesdrogen, drogen, warm roken en koud roken. Vis is te hittegevoelig voor steriliseren, daarom worden de micro-organismen gedood door pasteuriseren en daarna wordt de vis luchtdicht verpakt. Invriezen is gebaseerd op de eigenschap van micro-organismen zich niet meer voort te planten en geen activiteit meer te vertonen, wanneer de temperatuur ongeveer -18 graden Celsius is. Ook de enzymen vertonen hierdoor een geringere activiteit. Om uitdroging te voorkomen wordt de vis goed ingepakt. De vis moet snel worden ingevroren, omdat er bij trage invriezing grotere ijskristallen in de holten in de vis ontstaan, die het vlees beschadigen. Bij het ontdooien verliest de vis daardoor vocht en zakt in elkaar.

Roken begint met pekelen en / of drogen. Pekelen is echter een proces dat ook op zichzelf kan staan. Pekelen heeft een conserverende werking, omdat hiermee vocht aan de micro-organismen en het product in het algemeen wordt onttrokken. Door het zout wordt het vochtgehalte van het product dus lager en bovendien wordt het waterbindend vermogen groter.

Eerst dienen slijm, ingewanden (misschien vanwege enzymen?), kop en vinnen verwijderd te worden. Daarna zijn er verschillende mogelijkheden, die afhankelijk van het vervolg van de conservering worden ingezet:

- De vis kan gedurende een week in een sterke zoutoplossing gelegd worden. (voor koud roken of binnen twee weken consumeren)
- De vis kan gedurende 8 uur in een minder sterke zoutoplossing gelegd worden. (voor heet roken en niet direct consumeren)
- De vis kan met zout worden ingewreven (voor heet roken)

Wanneer met het roken wordt begonnen moet de vis droog zijn. Door het roken wordt de vis nog verder uitgedroogd. Omdat water dus bijna geheel ontbreekt, wordt de groei van micro-organismen geremd. Hoe langer de vis wordt gerookt, des te lager zal het watergehalte zijn en des te langer zal de vis houdbaar blijven. Bij koud roken is de rooktemperatuur 25 graden Celsius en bij heet roken schommelt die tussen de 50 en 110 graden Celsius. Koud roken duurt 1 tot 6 dagen en geeft de vis een langere houdbaarheid dan heet roken. Bij heet roken (wat in tijdsduur varieert van enkele uren tot 1 ½ dag) wordt de vis namelijk bijna helemaal gaar gekookt, waardoor deze sappiger blijft en dus meer water bevat. Door roken worden een heleboel factoren aangepakt, namelijk de verlaging van de wateractiviteit door uitdroging, temperatuurverhoging en chemische behandeling door stoffen uit de rook die de bacteriegroei remmen (zoals de desinfecterende stof methanal (formaldehyd)).

Ook het drogen van vis, zonder dat deze wordt gerookt of gepekeld, berust op het onttrekken van vocht aan de micro-organismen. Hierdoor wordt de wateractiviteit heel laag.

Door vis vacuüm te verpakken, bijvoorbeeld in blik of in plastic waaruit lucht is onttrokken, neem je de zuurstof weg. Tegenwoordig vervangen voedingfabrikanten de lucht in een verpakking door gassen, zoals stikstof, zuurstof en / of

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

koolzuurgas. Bij verse, rauwe producten zoals vis gebruikt men een overmaat aan zuurstof (70 procent). Hierdoor wordt de rode kleur behouden en de groei van bacteriën wordt geremd.

Rolmopsen worden in azijn gelegd, deze zure omgeving werkt vooral bacteriegroei tegen.

Bij vriesdrogen wordt vocht onttrokken aan stoffen bij temperaturen onder het vriespunt. Dit kan doordat de druk is verminderd. In de praktijk wordt het product diepgevroren, gelijkmatig verdeeld in dunne lagen en onder vacuüm gebracht. Door verwarmingsplaten wordt (sublimatie)warmte toegevoerd, waardoor het ijs in dampvorm kan overgaan. Met vriesdrogen kan een zeer laag vochtgehalte worden bereikt, in sommige gevallen tot ca. 1%. De aanwezige micro-organismen worden dus niet gedood, maar dit verlaagd de wateractiviteit en hierdoor de groeimogelijkheden van micro-organismen. Ten opzichte van bijv. drogen met hete lucht heeft vriesdrogen in het algemeen als voordelen, dat structuur en uiterlijk beter bewaard blijven, dat er tijdens het drogen minder concentratie van opgeloste stoffen in de buitenste lagen van het product en minder verlies van vluchtige stoffen optreedt, zodat kleur en smaak beter behouden blijven, en dat bij toevoegen van water de oorspronkelijke toestand vrij snel benaderd wordt.

Nieuwe conserveringsmethoden:

Een nieuwe methode berust op het toevoegen van enzymen die ervoor zorgen dat er een stof wordt gemaakt die toxisch is voor schadelijke micro-organismen. Zo kan men het enzym myeloperoxidase toevoegen, wat samen met waterstofperoxide en chloride hypochloorzuur te vormen, wat fataal is voor micro-organismen. Ook bestaan er enzymen en andere eiwitten die de celwand van bacteriën lek maken, waardoor zo'n bacterie sterft. Een technologie die nog in zijn kinderschoenen staat is het gebruik maken van bacteriocinen. Dit zijn zeer effectieve eiwitten die bacteriën zelf gebruiken als verdediging tegen andere bacterie stammen. Hun werking berust op het lek maken van de bacteriemembraan, waardoor de bacterie waardevolle voedingsstoffen verliest en uiteindelijk sterft. Andere soorten bacteriocinen gaan de vijandelijke cel binnen en breken het RNA of DNA van de aangevallen cel af. Vergelijkbare stoffen worden door gisten gemaakt (killer toxins) en ook de specifieke afweer in het lichaamsvocht van de mens maakt bacteriën onschadelijk door hun celwand lek te prikken. Melkzuurbacteriocinen zijn het meest geschikt, omdat ze kleur-, reuk- en smaakloos zijn en werkzaam blijven onder een reeks van temperatuur- en zuurcondities. Bovendien produceren melkzuurbacteriën de afvalstof, melkzuur, die andere micro-organismen het leven letterlijk zuur maakt. Zo kunnen dus bacteriën gebruikt worden in de strijd tegen andere bacteriën.

(blz 138 en 139 Eten en Weten)

Men vervangt in de verpakking van producten de zuurstof door een gasmengsel van stikstof en koolzuur.

Ook met behulp van gammastralen kunnen micro-organismen worden gedood. Toxinen worden door het doorstralen echter niet onschadelijk gemaakt. Een radioactieve bron zendt dan namelijk ioniserende stralen uit, met een groot doordringend vermogen. Deze straling breekt het DNA af en hierdoor stopt de celdeling van de schadelijke ziektekiemen. Bij het doorstralen gaan weinig vitamines verloren (bij verhitten wel). Het probleem is dat de methode duur is en dat nog niet alle voedingsmiddelen kunnen worden behandeld.

In Japan werkt men aan een conserveringsmethode waarbij men voedsel onder hoge druk zet waardoor micro-organismen gewoon dood worden gedrukt. De smaak en voedingswaarde blijven echter behouden. Dit komt doordat celwanden en grootte moleculen zoals eiwitten wel kapot gaan, maar de kleine moleculen van smaakstoffen en vitamines niet. Momenteel wordt er jam geconserveerd doormiddel hoge druk. Er wordt hiertoe een zak fruit ondergedompeld in water en aan een druk van 6.000 atmosfeer blootgesteld. In het water is er minder energie nodig, omdat het minder makkelijk in elkaar te persen is en het zorgt voor een gelijkmatige verdeling van de druk. Bij 1.000 bar desintegreren de cellen, bij 2.000 bar vallen de eiwitten uiteen, bij 4000 bar gaan de micro-organismen dood doordat de membraaneiwitten beschadigen en bij 10.000 bar gaan ook de sporen dood, maar dit kan in praktijk niet omdat dan het water bevroert.

Een conserverende techniek die nog in zijn kinderschoenen staat is het toepassen van pulserende elektrische velden. Er wordt dan gedurende één milliseconde een elektrisch veld van 30.000 Volt per centimeter gegenereerd. Hierdoor gaat een stroom door het voedsel lopen die eiwitten en micro-organismen elektrocuteert, wederom worden alleen macromoleculen aangetast.

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Bijlage

In de bijlage hebben we ook nog onze correspondentie met enkele medewerkers van de universiteit van Wageningen opgenomen. Hierin staan nog een aantal specifieke vragen die voor en tijdens het onderzoek bij ons opkwamen. Een aantal van de antwoorden hebben we al in de oriëntatie opgenomen, andere hebben we bij de waarnemingen die deze vragen opriepen geplaatst. Toch kan het kan verhelderend zijn deze nog te bekijken.

Onderzoek Hoofdstuk 1 Hypothese

De gedachte achter de proeven:

We hebben ingeschat welke conserveringmethoden we, met beperkte middelen, zelf zouden kunnen toepassen. Vervolgens hebben we bepaald welke verschillende experimenten we het beste konden combineren, om zo veel mogelijk verschillende factoren aan te pakken. Verder hebben we alle stukje vis zo vergaand mogelijk geconserveerd als mogelijk was, zonder dat de consumptie van het product de menselijke gezondheid zou schaden. We hebben gekozen voor:

1. **Verhitting.**

Door de vis te verhitten denatureren enzymen, en zullen deze een veel kleinere rol spelen in het bederf van vis. Schimmels en bacteriën zullen sterven door de hoge temperatuur. De sporen van deze micro-organismen zullen de hitte echter wel overleven en dan vooral die van de bacteriën, omdat schimmelsporen gevoeliger zijn voor hitte. Door de hitte wordt de vis gedroogd en hierdoor zullen vooral de bacteriesporen en bacteriën uit de lucht niet snel groeien. Schimmelsporen en schimmels uit de lucht, die ongetwijfeld na de verhitting op de vis komen, zullen minder last hebben van de lage concentratie water, maar omdat de oorspronkelijke sporen grotendeels vernietigd zijn, hoeven we hier minder rekening mee te houden. Bij deze methode worden dus bijna alle veroorzakers van bederf buiten spel gezet (bacteriën, schimmels en enzymen worden vernietigd en de eventuele overgebleven bacteriesporen kunnen zich door de droogte niet ontwikkelen). *Doelgroep: micro-organismen en enzymen*

2. **Alcohol.**

Alcohol is een giftige stof voor zowel bacteriën als schimmels, de aanwezigheid van deze stof zal de groei van deze micro-organismen remmen. Verder wordt de vis ook nog gedroogd, omdat alcohol water onttrekt (het is ook polair en wanneer het water onttrokken is, verdampen beiden stoffen) en dit zal vooral voor bacteriën nadelig uitpakken. Enzymen zullen geen last hebben van een hoog alcohol percentage. We hebben de vis alleen in een alcoholoplossing gedoopt, want wanneer je de vis in een alcoholoplossing zou bewaren dan zou je ook andere factoren, zoals water en zuurstof veranderen. *Doelgroep: micro-organismen*

3. **Azijn**

De zuurgraad van een stukje vis is pH 7, dit is het optimum van veel bacteriën. Azijnzuur verlaagt de zuurgraad van het stukje vis. Hierdoor leggen veel bacteriën het loodje, hoewel schimmels over het algemeen goed groeien bij een lage pH (zuurtolerant of acidofiel). Er wordt ook afgeweken van de optimumwaarde van enzymen, zodat ook enzymatisch bederf wordt tegengegaan. We hebben de vis alleen in een azijnzuuroplossing gedoopt, want wanneer je de vis in een azijnzuuroplossing zou bewaren dan zou je ook andere factoren, zoals water en zuurstof veranderen. *Doelgroep: bacteriën en enzymen*

4. **Vriezen**

De bacteriën die in de vis zelf zitten kunnen lage temperaturen weerstaan, de vis heeft immers in koud water gezwommen en vissen zijn koudbloedige dieren. Wanneer we de temperatuur echter tussen de -5 en de -10 graden Celsius brengen, dan zullen deze bacteriën natuurlijk ook wat in hun groei worden geremd. Deze methode zal echter vooral de groei remmen van bacteriën die in het verwerkingsproces van de vis op de vis belanden (via de lucht e.d.). Bovendien is er door de bevroering ook minder water beschikbaar en dit is nadelig voor de bacteriën. Schimmels kunnen beter tegen lage temperaturen en droogte. Enzymen worden ook minder actief, wanneer de temperatuur daalt. *Doelgroep: Vooral bacteriën en enzymen en in mindere mate ook schimmels*

5. **Onder water**

Door de vis onderwater te bewaren hebben bacteriën en schimmels geen toegang meer tot zuurstof. Alle schimmels zijn aëroob en ook een deel van de bacteriën op de vis. Deze individuen worden in hun groei geremd. De overvloedige hoeveelheid water bevordert de groei van de micro-organismen niet sterk, omdat er in de oorspronkelijke vis toch al veel water aanwezig is voor de micro-organismen. *Doelgroep: Schimmels en aërobe bacteriën. Verder kan er ook geen oxidatie plaatsvinden.*

6. **Suiker**

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Door suiker toe te voegen, wordt water gebonden en hierdoor worden vooral bacteriën in hun groei geremd. Bacteriën kunnen ook niet in een hypertoon milieu leven, dus ook dit aspect van de suikering berokkent hun nadeel. Het doet er niet toe, dat suiker als voedingsstof voor de bacteriën kan dienen, omdat de bacteriën sowieso niet op de vis kunnen leven door het tekort aan water. Schimmels kunnen wel met weinig water leven en gebruiken ook suiker als voedingsstof. Bovendien kunnen zij ook in een hypertoon milieu leven, omdat hun celwandstructuur zorgt voor goede afsluiting van celinhoud t.o.v. buitenwereld. Daarnaast is het milieu in een schimmel ook van een redelijk hoge osmotische waarde, wat de verliezen nog verder beperkt. Op grond hiervan verwachtten wij dat er schimmels op de gesuikerde vis zal ontstaan. We hebben de vis alleen in suiker gelegd en niet in suikeroplossing, omdat dan er anders ook andere factoren zoals zuurstof en water veranderen. *Doelgroep: Bacteriën*

7. **Zout**

Door de vis met zout te pekelen, wordt water aan de vis onttrokken, en hierdoor pak je wederom bacteriën aan. Schimmels kunnen echter wel met maar een beetje water overleven. Voor de gevolgen van het verschil in osmotische waarde, verwijzen wij naar suiker.

Zout is geen voedingsstof voor schimmels en bacteriën. We verwachtten daarom niet dat pekelen de groei van micro-organismen bevordert, zoals suiker dat doet. Wel zal er net als bij het suikeren geselecteerd worden op schimmels, maar de groei wordt niet door extra voedingsstoffen (zoals de grootte hoeveelheid suiker) gestimuleerd. We hebben de vis alleen in zout gelegd en niet in zoutoplossing, omdat dan er anders ook andere factoren zoals zuurstof en water veranderen. *Doelgroep: Bacteriën*

8. **Drogen**

Bij het drogen wordt vocht aan de vis onttrokken, hierdoor worden vooral de bacteriegroei geremd. Zoals al eerder gezegd, lijden schimmels hier minder onder. *Doelgroep: Bacteriën*

9. **Zuurstof**

Een atmosfeer met een maximale hoeveelheid zuurstof is giftig voor anaërobe bacteriën. Aërobe bacteriën en schimmels zullen echter een voordeel hebben bij een hoge concentratie zuurstof. Deze methode zal dus aërobe micro-organismen selecteren. *Doelgroep: Anaërobe bacteriën*

10. **Koolstofdioxide**

Door de grootte concentratie koolstofdioxide, zal er bijna geen zuurstof meer in de atmosfeer van de vis zijn. De groei van aërobe micro-organismen zal dus worden geremd, anaërobe micro-organismen zullen geen voordeel of nadeel hebben bij een hoge concentratie koolstofdioxide. *Doelgroep: Aërobe bacteriën en schimmels. Verder kan er ook bijna geen oxidatie plaatsvinden*

Verder hebben we een aantal stukken vis ongeconserveerd gelaten, om de hiermee de effectiviteit van de conserveringsmethoden te vergelijken.

Omdat er bij verhitting bijna alle veroorzakers van bederf buiten spel worden gezet (bacteriën, schimmels en enzymen worden vernietigd en de eventuele overgebleven bacteriesporen kunnen zich door de droogte niet ontwikkelen), terwijl de andere methoden eerder een vertragende werking hebben en niet alle veroorzakers aanpakken, verwachten wij dat deze methode het succesvolst zal zijn. Eigenlijk wordt alleen vetoxidatie niet aangepakt, maar door de verhitting is bijna al het vet verdampt, dus ook dit zal weinig problemen opleveren.

Hoofdstuk 2 De opzet van de proeven

Woensdag 14 november hebben we een forelfilet gekocht die in de winkel werd gekoeld. 14 November was de uiterste houdbaarheidsdatum. We hebben de vis een dag ingevroren op een temperatuur van ongeveer 0 graden Celsius. Op donderdag 15 november hebben we de vis ontveelt en in kleine stukjes gesneden. We hebben de vis toen wel met onze handen aangeraakt en de vis is blootgesteld aan de bacteriën uit de lucht, maar dit zal, wanneer de vis in praktijk moet worden geconserveerd ook wel gebeuren. Bovendien hebben we dit met alle stukken vis gedaan, dus de omstandigheden van de stukken vis die we wilden conserveren waren aan het begin van de proeven gelijk.

De meeste stukken vis hebben we in een glazen petri-schaaltje bewaard, daarin zit genoeg lucht om de micro-organismen gedurende de looptijd van de proeven van zuurstof en enig vocht te voorzien. Deze schaaltes belemmeren de circulatie, dus een tekort aan een bepaalde stof zal niet worden aangevuld en bovendien kunnen er geen organismen uit de lucht bij de vis komen.

De vis die we met water of gas hebben geconserveerd, hebben we in een luchtdicht afgesloten pot bewaard. Wederom is de hoeveelheid zuurstof en wat vocht uit de lucht voldoende om de micro-organismen weken van zuurstof te voorzien.

We gaan ongeveer een keer in de drie dagen gedurende vier weken waarnemingen doen. Bovendien zullen we een keer per week foto's van de stukken vis maken.

Hoofdstuk 3 Waarnemingen

Omdat de volledige waarnemingen niet altijd even relevante informatie beslaan, staan deze in de bijlage. Dit zijn de zuivere waarnemingen, dat wil zeggen dat ze niet geïnterpreteerd zijn. Hier volgt een samenvatting, waarin we ze wel interpreteren om dit hoofdstuk tot een logischer geheel te maken:

Verhitting

Zoals verwacht hielden deze monsters zich goed. Door de verhitting waren ze weliswaar veranderd – ze hadden vocht verloren en waren daarom gekrompen en bovendien hadden ze een bruin korstje gekregen – maar in de vier daarop volgende weken hebben we geen veranderingen meer waargenomen.

Alcohol

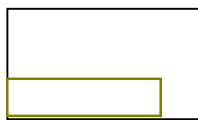
De stukjes vis zijn eerst iets lichter van kleur geworden dan zij oorspronkelijk waren. Dit komt doordat er gedurende de periode waarin het stukje vis in de alcohol oplossing lag, bloed met de daarbij behorende rode kleurstoffen aan de vis onttrokken is. De eiwitten en vetten, waaruit de vis verder nog is opgebouwd, zijn kleurloos of wit. In de daaropvolgende weken zien we dat de vis donkerder van kleur wordt, tot deze uiteindelijk bruin is. Bovendien is de vis gedroogd, omdat alcohol een wateronttrekkende werking heeft. Het feit dat deze vis bruin wordt is te verklaren door het feit dat zowel de uitdrogende als de vergiftigende werking geen invloed hebben op de enzymwerking. De enzymen zorgen dus voor deze kleurveranderingen. Omdat bacteriën en schimmels hier wel onder lijden hebben deze de vis niet gekoloniseerd.

Azijn

De stukjes zijn eerst iets lichter van kleur geworden vanwege dezelfde reden als bij de met alcohol geconserveerde vis. Na ongeveer twee weken echter, was de vis duidelijk gelig en uiteindelijk wordt een van de stukjes bruin en de ander donker geel. Het is niet zo heel eenvoudig om te bepalen waar dit aan ligt. De gele kleur kan veroorzaakt worden door de oxidatie van hemoglobine, maar omdat we hebben gezien dat er nog maar weinig hemoglobine is achtergebleven in de vis – de vis is wit geworden – is dit niet de waarschijnlijkste optie. Ook door oxidatie of afbraak van eiwitten en vetten kunnen gele en bruine componenten gevormd worden (voor de liefhebber: bepaalde vetzuuroxidatieproducten en bepaalde oligopeptiden). Afbraak door enzymen lijkt ons het waarschijnlijkst: er ontstaat geen slijm laag zoals dat bij bacteriën gebruikelijk is en er zijn geen schimmels zichtbaar. Ook het feit dat de kleur uiteindelijk naar het bruine gaat neigen, pleit voor enzymatisch bederf.

Vriezen

Na ongeveer een week begint de vis langzaam groenig te worden aan de onderkant. Dit wijkt af van de andere waargenomen kleurafwijkingen die meestal resulteren in iets bruins of geels. Dit komt waarschijnlijk omdat er bij deze lage temperaturen bijvoorbeeld andere bacteriën in grote hoeveelheden voorkomen. Elk soort micro-organisme heeft een eigen metabolisme, waardoor de kleur van de micro-organismen en de uitscheidingsproducten ervan verschillen. Deze verkleuring loopt uit naar de zijkant en wordt iets erger in de daaropvolgende weken. Schematisch zien beide stukjes vis er ongeveer zo uit:



Zijaanzicht



Vooraanzicht

De gearceerde oppervlakte is bruingroen.

Water

De vis is al vrij snel wit geworden (de eerste dag al). Dit komt wederom door het verdwijnen van de rode kleurstoffen (hemoglobine) in de vis. De oplossing is een beetje troebel geworden, omdat bepaalde stukjes vis loslaten.

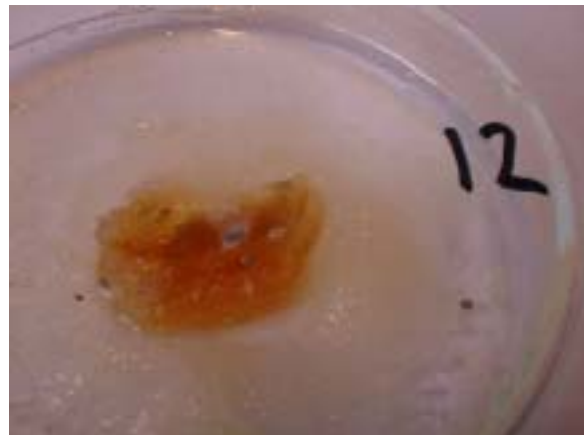
Suiker

Al op de eerste dag is er een opvallende verandering. Na een half uurtje is er een heleboel vocht uit de vis gekomen. Dit ligt buiten de vis in de vorm van een beetje een stroperige suikeroplossing. Verder is de vis na nog wat meer tijd licht bruin en een beetje doorzichtig aan het worden. Zie de linker foto hieronder

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)



De gesuikerde vis in het begin van het onderzoek De gesuikerde vis aan het eind van het onderzoek

Al na een week is de vis bruin van kleur. Er is veel vocht onttrokken. Enige tijd lang is er geen sprake van bederf, maar na ongeveer drie weken zien we tot onze verbazing, kleine, grijze en witte schimmeltjes ontstaan. Na vier weken zien we zelf bij een van de monsters op de suiker schimmeltjes. Zie de rechter foto hierboven. Dit is te verklaren door de eigenschap van schimmels dat ze redelijk goed in een hypertone omgeving kunnen leven en suiker als voedingsstof kunnen gebruiken.

Zout

Voor zover wij konden zien – de vis zat onder het zout – hielden deze monsters zich redelijk goed. Na twee weken echter begonnen er langzaam iets groens door het wit van het zout heen te schemeren. We kunnen met redelijk grote zekerheid zeggen dat deze verkleuring niet veroorzaakt wordt door enzymen uit de vis, omdat we deze verkleuring anders ook hadden moeten waarnemen bij de controle stukjes (enzymen worden niet door andere enzymen overheerst). Daarom moeten het wel zoutminnende bacteriën zijn (het is duidelijk een ander type dan bij bederf van controle stukjes actief is).

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Drogen

Tijdens het föhnen komt er vet uit de vis (door de hitte is dit blijkbaar vloeibaar geworden). Bovendien wordt de vis een beetje bruin door de warmte en krimpt hij door de verdamping. Zie de linker onderstaande figuur.

De gedroogde vis aan het begin van het onderzoek De gedroogde vis na twee weken



Na ongeveer een week is er een witte schimmel op het slechtst gedroogde stukje vis ontstaan. Langzaam begint deze schimmel het stukje in zijn geheel te omsluiten. Naast de witte schimmel is er dan ook een groene schimmel aan de onderkant ontstaan (een beetje op een hoek). Ook zijn er aan de onderkant wat oranje schimmeltjes en witte schimmeltjes ontstaan. Zie de bovenstaande figuur, rechts.

Na vier weken heeft de schimmel zijn donzigheid verloren. (De oppervlakte die de schimmel beslaat is gelijk gebleven, maar de spinnewebachtige structuur van de schimmel is gereduceerd tot een dun laagje gekleurd materiaal, dat de vis bedekt). Dit komt waarschijnlijk omdat er in de loop van de tijd steeds minder vocht beschikbaar is gekomen, want aan voedingsstoffen heeft de schimmel geen gebrek. We kunnen bovendien ook horen en zien dat het monster keihard en dus droog is geworden.

Het goed gedroogde monster is ook keihard geworden (dat kun je horen aan het gerammel).

Na ongeveer drie weken is ook hierop een kleine hoeveelheid grijze schimmel ontstaan.

Schimmels kunnen beter zonder water dan bacteriën, daarom is het niet verwonderlijk dat schimmel nu juist voor het bederf zorgt. Het is logisch dat de schimmel het eerst ontstaat, op het slechtst gedroogde stukje: hier is meer water.

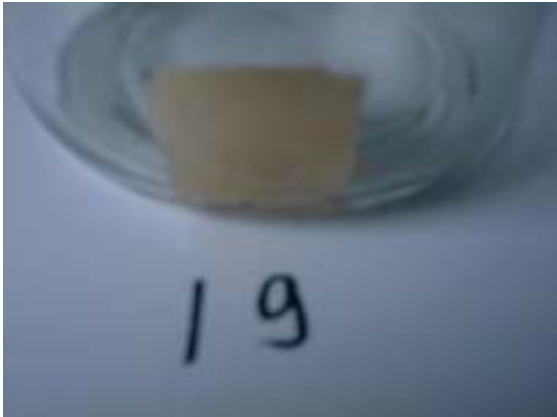
Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Zuurstof

Deze conserveringsmethode mogen wij met een gerust hart als de slechtste uit deze serie beschouwen. In het begin van het onderzoek zag de vis er net als alle andere stukken uit. Zie de linker foto hieronder. Al na vier dagen begint de vis gelig te worden en het duurt niet lang voor hij overdekt is met slijm en erg geel is geworden. Dit proces zet zich nog verder door.



De vis in zuurstof aan het begin van het onderzoek De vis in zuurstof aan het eind van het onderzoek

De zuurstof heeft alleen de werking van de aërobe bacteriën bevorderd. Deze vormen een veel grotere bedreiging dan de anaërobe bacteriën waartegen de zuurstof als wapen bedoeld was. Ze kunnen namelijk veel meer energie halen uit eenzelfde hoeveelheid grondstoffen. Schimmels worden ook in hun groei bevorderd door de zuurstof, maar zij krijgen door de massale groei van bacteriën geen kans zich te ontwikkelen. Deze bacteriën produceren het slijm wat wij in zo'n grote hoeveelheden hebben waargenomen. Het slijm bestaat uit suikers die door veel bacteriën worden gevormd. In dit slijm zijn ook enzymen aanwezig om de vis te verteren (waardoor de bacteriën weer meer voedingsstoffen krijgen om verder te groeien). Hierin zitten bepaalde vet en eiwit afbrekende enzymen tussen. Deze afbraak zorgt voor zowel kleurverandering als stankvorming. Er vindt dus hetzelfde bedervingsproces plaats als bij de controle stukjes, maar dan versneld. Het eindresultaat van deze versnelde bederving kan u bewonderen op de rechter figuur onderaan de vorige pagina.

Koolstofdioxide

Aanvankelijk houden deze stukjes zich redelijk goed, maar na 12 dagen zijn ze een tikkeltje slijmerig en een beetje geel. Deze indicatoren van bederf worden in grotere mate zichtbaar in daaropvolgende weken. Het is uitermate frappant dat één van de stukjes i.p.v. geel, wit wordt. Hier hebben wij geen verklaring voor. Bij het andere stukje vindt wel hetzelfde bedervingsproces plaats als bij de controle stukjes, maar dan vertraagd.

Grote controle stukjes

Na vier dagen zien we dat de vis geel en slijmerig is geworden. Dit slaat na twee weken om in karamelkleur en nog iets later wordt het slijm wittig. Bacteriën breken het vet en eiwit af. Dit zorgt voor het gekleurde gele slijm. Langzaam zullen de bacteriën dit gaan gebruiken voor hun energievoorziening, waarbij CO₂ en water wordt gevormd terwijl de vet- en eiwitafbraakproducten verdwijnen. Daarom is het slijm eerst geel en later wit.. Uiteindelijk wordt de vis zelfs bruin en vreemd genoeg ook minder slijmerig. We vermoeden dat dit laatste komt door de verdamping (het petri-schaaltje is niet voor honderd procent afgesloten van de omgeving en omdat het slijm niet in de vis zit, maar over een groot oppervlak verspreid ligt, kan het vocht makkelijk verdampen).

Kleine controle stukjes

Wederom na vier dagen worden de stukjes geel en slijmerig. Na iets minder dan twee weken worden ook deze stukjes karamelkleurig. Opvallend is dat er veel minder slijm ontstaat, dan bij de grotere stukken en ze zijn, vooral aan het einde, droger. Het ene monster wordt barnsteen kleurig en de andere okergeel. We verklaren de snellere uitdroging van de kleine stukjes in verhouding tot de grotere stukjes door te wijzen op het verschil in verhouding tussen oppervlakte

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

en inhoud. Omdat bij de kleinere stukjes de oppervlakte waar het slijm op komt in verhouding groter is, kan dit makkelijker verdampen.

Hoofdstuk 4 Conclusie

Onze hypothese is bevestigd: verhitting heeft het beste resultaat opgeleverd. Zoals we bij onze waarnemingen hebben aangegeven, zijn er geen veranderingen meer opgetreden in structuur en kleur en ook hebben geen activiteit van micro-organismen waargenomen. Ook rook de vis na vier weken niet sterk. Hierin zijn deze monsters binnen ons onderzoek uniek. Daarom is het niet moeilijk te bepalen dat zij het beste voldoen aan de eisen die wij aan het begin van het onderzoek gesteld hebben: door de conserveringsmethode mag de vis in het begin veranderen, maar daarna mogen er geen veranderingen meer optreden (want die duiden op bederf).

Redelijk goed hebben de conserveringmethoden met alcohol, invriezing en zout gewerkt. Hier zijn eigenlijk alleen kleurveranderingen opgetreden, zonder er dat bijvoorbeeld slijm of micro-organismen te zien waren of dat er buitensporige geuren te ruiken waren. Alcohol is in sterkste mate van kleur veranderd en daarom beschouwen we deze methode als de slechtste van deze drie. Iets minder goed hebben suikeren en drogen gewerkt. Hier waren in beide gevallen na twintig dagen duidelijk schimmels zichtbaar. Ook door de vis onder water te bewaren leek hij redelijk goed geconserveerd te worden, maar we konden niet met zekerheid vaststellen dat er bijvoorbeeld geen slijm is ontstaan. Bovendien begon de vis al een beetje uit elkaar te vallen. Op de laatste dag kregen we wat meer inzicht in het toch wel ontstane bederf: toen het potje openging, vielen we bijna flauw. Nog eerder begonnen de methoden met koolstofdioxide en azijn sporen van bederf te vertonen in de vorm van verkleuring en bij koolstofdioxide ook nog slijm en een walgelijke geur (al na minder dan twee weken).

Op grond van dit onderzoek kunnen wij zuurstof als conserveringmethode voor vis geheel verwerpen, omdat hierbij de snel vermenigvuldigend aërobe bacteriën die zo'n grote rol spelen bij bederf alleen maar gestimuleerd worden. Achteraf kunnen we stellen dat we een redelijk goede voorspelling hebben gedaan wat betreft het bederf dat bij iedere conserveringsmethode waarschijnlijk op zou treden. Alleen hadden wij soms fout ingeschat, dat schimmels problemen zouden opleveren: in een omgeving waar bacteriën goed kunnen functioneren (vooral de aanwezigheid van water speelt een belangrijke rol) krijgen schimmels geen kans. Dit geldt voor zuurstof, koolstofdioxide en de controlestukjes. Bij azijn hadden we de problemen verwacht uit de hoek van de schimmels, maar vreemd genoeg kwamen die uit de hoek van de enzymen. Waarschijnlijk is de daling van de zuurgraad niet sterk genoeg geweest om hun activiteit voldoende te vertragen. Bij vriezen hadden we schimmels verwacht, maar waarschijnlijk zijn het bacteriën die de groenkleuring veroorzaken. Dit verwachten wij op grond van de beperkte locatie waarop het bederf plaatsvindt en vanwege de ongewone kleur. We kunnen met redelijk grote zekerheid zeggen dat deze verkleuring niet veroorzaakt wordt door enzymen uit de vis, omdat we deze verkleuring anders ook hadden moeten waarnemen bij de controle stukjes (enzymen worden niet door andere enzymen overheerst). Het is waarschijnlijk dat het koud minnende bacteriën zijn (het is duidelijk een ander type dan bij bederf van controle stukjes actief is). Bij het in water geconserveerde monster hadden wij op enzymatisch bederf gerekend. Het is ons nog steeds niet helemaal duidelijk waarom dat er niet gekomen is (misschien was het er wel, maar resulteerde het niet in een waarneembare kleurverandering).

Productevaluatie

Over het algemeen zijn we tevreden met ons resultaat. We hebben veel gegevens verzameld en in onze optiek hebben we die ook overzichtelijk verwerkt (bijvoorbeeld door de waarnemingen samen te vatten zodat alleen de relevante informatie in het verslag zelf terecht kwam en verder hebben we een selectie gemaakt van de belangrijkste foto's). Ook lijkt de opzet van het verslag ons duidelijk.

We hebben ons uitgebreid georiënteerd en door onze contacten met Wageningen hebben we ook op belangrijke specifieke deelvragen antwoord kunnen krijgen. Daarom konden we de meeste van onze waarnemingen verklaren en was de conclusie logisch.

Onze doelstelling (namelijk om de beste conserveringsmethode aan te wijzen) was enigszins lastig waar te maken, omdat bederf niet altijd met het oog is vast te stellen. Wij moesten vooral op onze ogen vertrouwen, terwijl we onze reuk en tastzin eigenlijk alleen aan het einde van het onderzoek voor de waarnemingen konden gebruiken. Toen bleek dat sommige stukken die niet leken te zijn bedorven een vreselijke geur afgaven. Bovendien hebben we de stukjes niet getest op smaak. We kunnen onze rangschikking van de conserveringsmethoden van goed naar slecht dus iet honderd procent vertrouwen, maar de conclusie blijft toch overeind: zelfs met de reuk en de tastzin erbij leek de verhitte vis vrijwel geen veranderingen te hebben ondergaan. We hebben geluk gehad dat er geen andere monsters zijn geweest die ook in een dergelijke mate relatief onbedorven leken, want dan was het veel moeilijker geweest om de beste aan te wijzen.

De betrouwbaarheid van onze resultaten hebben we bovendien vergroot door de conserveringsmethoden op twee monsters toe te passen. Hierdoor is de kans op afwijkingen kleiner. Soms waren er verschillen, maar die waren goed te verklaren (bijvoorbeeld in het geval van drogen: het ene stukje was door omstandigheden korter gedroogd dan het andere) of de vorm van bederf was hetzelfde, maar alleen de intensiteit was ietwat verschillend. Bij koolstofdioxide vindt bijvoorbeeld pas aan het eind van de onderzoeksperiode differentiatie plaats. Dit is eigenlijk het enige monster waarbij de resultaten uiteenliepen en zelfs hierbij gebeurde dat pas na enige tijd. Opvallend is dat bij de twee gesuikerde stukken vis precies dezelfde ontwikkelingen plaatsvinden. De schimmels op deze monsters ontstaan ongeveer op hetzelfde tijdstip. Hierdoor kan je met veel meer zekerheid een conclusie trekken over suiker als conserveringsmethode. Wanneer we het onderzoek opnieuw zouden uitvoeren, zouden we de petri-schaaltjes hermetisch proberen af te sluiten (misschien met tape of klei). Dit heeft als voordeel dat we de omgeving en onszelf minder overlast bezorgen, dat er geen water kan verdampen en uit het petrischaaltje kan verdwijnen, waardoor er in bepaalde gevallen uitdroging optreedt en op deze manier kunnen we de mate van stank bij het uiteindelijk weghalen van de verzegeling beter vergelijken. Nu was het zo dat de afgesloten potjes veel harder stonken dan de petri-schaaltjes die tussendoor nog wat van hun stank kwijt konden raken. Aan de andere kant is dit laatste argument (dat we de stank hadden kunnen vergelijken) niet zo heel sterk: we hebben toch niet echt meer geroken aan de potjes die we openmaakten, nadat we een keer voor deze overmoedige daad gestraft waren.

In het bronnenoverzicht staan alle bronnen die we hebben gebruikt. We hebben geprobeerd dit overzicht zo overzichtelijk mogelijk te maken door de bronnen naar soort te rangschikken. We hebben niet al te veel tijd besteed aan de verzorging van het werkstuk. We hebben er slechts naar gestreefd een homogene en overzichtelijke opbouw te realiseren. Bovendien hebben we enkele afbeeldingen ter illustratie ingevoegd.

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Procesevaluatie

We hebben vaker samen aan werkstukken gewerkt, maar in onze ogen is dit het werkstuk waarbij het proces het beste is verlopen. Voorheen moest er vaak op het laatste moment nog keihard en met heel veel stress gewerkt worden (vooral Martijn had moeite om volgens de planning te werken), maar deze keer was daarvan geen sprake. We hebben eigenlijk al gelijk vanaf het begin regelmatig aan het profielwerkstuk gewerkt en vooral na de herfstvakantie hebben we bijna alle gezamenlijke tussenuren gebruikt. We hebben dus bijna het hele profielwerkstuk op school gemaakt. Dit heeft veel voordelen boven bijvoorbeeld in de weekenden bijeen komen: in de eerste plaats is je weekend dan weg en in de tweede plaats is het makkelijker om je gedurende korte tijd intensief met een werkstuk bezig te houden, dan om een hele dag bezig te zijn. Je kunt dan meer werk verzetten en je krijgt betere ideeën. Dat we zo vroeg zijn begonnen is ook goed bevallen. Hierdoor hebben we vrijwel zonder stress kunnen werken en ook alle kleine tegenvallers, zoals die bijvoorbeeld vaak bij het werken met de computers van school optreden, naar tevredenheid op kunnen lossen. We hebben geen gedetailleerde lange termijn planning gemaakt, maar omdat we bij elk tussenuur weer opnieuw bezig waren met alle dingen die nog moesten gebeuren, zijn we niet op het laatst verrast en hadden we een goed overzicht. Als het erop leek dat we misschien in tijdnood zouden komen, werkten we iets langer door na school of deden we thuis nog wat extra's. Door bewust de tijdsduur voor onze activiteiten iets te overschatten, hadden we ruimte voor tegenvallers en alle kleine bijkomstigheden die altijd op het laatst opduiken (zoals het in elkaar zetten van het uiteindelijke werkstuk, het maken van een inhoudsopgave, de CD-rom enz.)

Ook inhoudelijke problemen konden tijdig gesignaleerd worden. Hiervoor konden we gelukkig altijd bij onze visexpert in Wageningen terecht.

De samenwerking is goed verlopen. Joris moest af en toe wat druk uitoefenen om onze zeer gedisciplineerde aanpak gaande te houden, maar omdat iedereen op tijd aan zijn afspraken heeft voldaan en we allebei hard hebben gewerkt, is er geen wrevel geweest. Ook zijn we erin geslaagd om de activiteiten zodanig te verdelen dat er geen dubbel werk gedaan hoefde te worden. Vooral bij de meer technische aspecten zoals het invoeren van gegevens in computer was dit erg geslaagd, omdat hier eigenlijk geen controle meer hoefde worden uitgeoefend door de ander. De onderdelen die inhoudelijk van belang waren, hebben we altijd samen gedaan of op zijn minst heeft de ander ze nog aan een kritische beschouwing onderworpen.

Globaal gezien hebben we ons aan de planning van het plan van aanpak gehouden, maar een aantal activiteiten zijn wat later uitgevoerd. Inhoudelijk zijn we ook een beetje van het plan van aanpak afgeweken, bijvoorbeeld wat de proeven betreft. Aanvankelijk waren we van plan om de vis luchtdicht te verpakken. Later hebben we ervoor gekozen om de stukjes in petri-schaaltjes te bewaren, omdat ze dan beter zichtbaar zouden zijn en dat leverde onder andere voordelen op bij de fotografie en de waarnemingen. Ook wilden we een vis vacuüm verpakken, maar dit bleek in praktijk niet mogelijk te zijn. Daarom hebben we in plaats daarvan vis onder water bewaard, omdat we op deze manier ook een zuurstofloze omgeving creëerden en dat was ons doel geweest bij het vacuüm bewaren. Ook hebben we niet echt gebruik gemaakt van onze biologie- en scheikundeboeken, omdat hiervoor geen noodzaak was. Dit zijn echter allemaal kleine afwijkingen. Het merendeel wat in ons plan van aanpak staat, hebben we ook zo uitgevoerd.

We hebben onze activiteiten goed bijgehouden in het profielwerkstuk-journaal en in ons logboek. Telkens als wij aan ons profielwerkstuk gewerkt hadden, schreven we gelijk op wat we hadden gedaan, wanneer we het hadden gedaan en hoelang het had geduurd. We hebben echter ook een aantal gesprekken gevoerd tijdens de lessen of in de pauzes als het profielwerkstuk toevallig ter sprake kwam. Deze zijn niet in het logboek opgenomen, omdat ze in een "informele context" plaatsvonden. Ook zijn er nog een paar activiteiten van Joris die misschien niet in het logboek staan, omdat dit door Martijn werd bijgehouden en wanneer Joris thuis ergens aan werkte, werd dit minder uitgebreid beschreven dan dat bij de gezamenlijke activiteiten of de activiteiten van Martijn het geval was. Dit komt doordat het journaal dan niet bij de hand was. Over het geheel gezien denken wij echter dat we het profielwerkstukjournaal zo nauwkeurig hebben bijgehouden, dat het onverantwoord was geweest om er nog meer tijd in te steken.

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Bronnenlijst

Boeken:

Dam-Mieras, R. van (red./samst.) (1991), "Eten en weten", Groningen: Wolters-Noordhoff, eerste druk.

Hoekstra, W.P.M. (1999), "Een wereld vol bacteriën", Amsterdam: Uitgeverij Nieuwezijds, eerste druk.

Pühony, K. (1986), "Natuurlijk conserveren", Sassenheim: Rebo Productions, eerste druk.

Sommer, W. (1999), "Een strijd tegen micro-organismen: hoe pakken we dat aan?", Alphen aan den Rijn: Samson, eerste druk.

Wessels, J.G.H. (red./samst.) (1985), "Leven met schimmels", Wageningen: Pudoc,

Artikelen:

Heselmans, Marianne, "Met behoud van smaak; Voedselconservering via hoge druk of elektrische pulsen", NRC-Handelsblad, 06-06-1998, pagina 12

Kasteren, J. van, "Lucht happen", NRC-Handelsblad, 03-03-1999, pagina 55

Zonder auteur, "Antibiotische eiwitten uit melkzuur", NRC-Handelsblad, 08-06-1995, pagina 3

Zonder auteur, "Bacteriën houden salades beter goed", Trouw, 28-10-1992, pagina 2

CD-ROM's

Microsoft Encarta Naslagbibliotheek '98 Winkler Prins, uitgeverij Het Spectrum en Microsoft.

Internetsites:

<http://www.howstuffworks.com/food-preservation.htm> via de site kennislink.weten.nl

<http://www.voedsel.net/vragen/index.htm#bederf> een medewerker van de universiteit van Wageningen verwees ons naar deze site. Toen we op de woorden conservering en bederf kregen we een goed resultaat.

<http://www.ftns.wau.nl/lmt/lmmb/bederf.htm> toen we het zoekwoord "conserveringsmethode" bij de site www.altavista.nl in voeren kregen we deze site als enige resultaat.

<http://www.visshop.com/nl/bewaren.html> toen we de zoekwoord "vis + bewaren" bij de site www.altavista.nl in voeren kregen we deze site als resultaat

E-mail contact met studenten en medewerkers van de Universiteit van Wageningen:

Jorit.Dekker@ VWO-campus.DPW.WAU.NL

Kasper.Hettinga@ VWO-campus.DPW.WAU.NL

Petra.Naber@ OWITV.MB.WAU.NL

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Bijlage: Waarnemingen

Geen verandering houdt in dat er geen veranderingen zijn ten opzichte van de vorige waarneming.

Gebruiksaanwijzing bij de CD-rom

Bij sommige van de waarnemingen hebben wij foto's genomen. Dit is duidelijk aangegeven boven de desbetreffende tabellen. De foto's staan allemaal onder elkaar in het word-bestand "fotobijlage". Dit is handig wanneer u het geheel aan foto's wilt overzien en misschien het makkelijkst via het afdrukvoorbeeld te bekijken. Wanneer u dan bij het percentage voor de beeldgrootte de optie "hele pagina" kiest, kunt u makkelijk van de ene pagina naar de andere gaan (met de knoppen page-up en page-down) en de foto's toch goed zien. Wanneer u echter een specifieke foto wilt bekijken, is het verstandiger om dat via de map "verzamelingen foto's per sessie" te doen. Hier staan de foto's in mappen die aangegeven zijn met de datum, waarop de foto's genomen zijn. De nummers van de J-pags die in deze mappen staan, corresponderen met de nummers van de monsters waarvan ze genomen zijn.

MONSTER	CONSERVERINGSMETHODE
1,2,3	Verhitting We hebben de vis in de broedstof gedurende 1 uur en 20 minuten verhit op 210 graden Celsius. Hierdoor is de AW- waarde verlaagd (door de verdamping) en de hoge temperatuur heeft enzymen gedenatureerd en bacteriën en schimmels gedood. (behalve sporen)
4,5	Alcohol We hebben de vis gedurende 1 uur en 35 minuten in een alcoholoplossing met een concentratie van 48% alcohol laten liggen. Alcohol is een giftige stof die als zodanig alle organismen aantast. Schimmels en bacteriën zullen hier dus last van ondervinden
6,7	Zuur We hebben de vis gedurende 1 uur en 35 minuten in een azijnzuuroplossing met een massapercentage azijn van 4% laten liggen. De lage pH is nadelig voor bacteriën en ook voor enzymen zal deze buiten hun optimum waarde liggen. Sommige schimmels echter kunnen heel goed functioneren in een zuur milieu
8,9	Vriezen We bewaren de vis bij een temperatuur van -7 graden Celsius. Dit vertraagt de werking van enzymen en de groei van bacteriën en schimmels
10,11	Water We bewaren de vis onder water. Hierdoor zal er geen zuurstof beschikbaar zijn voor bacteriën en schimmels.
12,13	Suiker Suiker bindt water. Hierdoor zal de AW- waarde dalen. Bovendien wordt de omgeving hypertoonisch voor bacteriën en schimmels.
14,15	Zout Zout bindt water. Hierdoor zal de AW-waarde dalen. Bovendien wordt de omgeving hypertoonisch voor bacteriën en schimmels.
16,17	Drogen We hebben met behulp van een föhn stukjes vis gedroogd. Nr.16 hebben we langer kunnen drogen dan 17. Hierdoor zullen vooral bacteriën gedupeerd worden.
18,19	Zuurstof We hebben de vis in een portje met een hoge concentratie zuurstof gebracht. Zuurstof is giftig voor anaërobe bacteriën.
20,21	Koolstofdioxide De aanwezigheid van koolstofdioxide zelf zal geen invloed hebben, maar wel de veel kleinere concentratie zuurstof als gevolg van de grote hoeveelheid koolstofdioxide die in het potje met vis is gebracht.
*18,19	Controle Met deze vis is niets gebeurd. Dit zijn redelijk grote stukken vis.

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

*20,21	Controle Met deze vis is niets gebeurd. Dit zijn redelijk kleine stukken vis.
--------	--

Datum: 15-11-'01 De dag waarop we met de proeven zijn gestart. De waarnemingen slaan dus op veranderingen die wij na de conservering hebben waargenomen

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>Verhitting</i>	De stukjes zijn kleiner geworden (waarschijnlijk door het vochtverlies) en hebben een krokant uiterlijk gekregen. Ze zijn echter niet vochtvrij geworden want in de petrischaaltjes zien we nog wat condens ontstaan.
4,5 <i>Alcohol</i>	De alcohol oplossing waar de vis in lag is troebel geworden (wit). Er moeten dus onoplosbare deeltjes van de vis af zijn geweest, onder invloed van de agressieve werking van alcohol (bij de andere oplossingen was dit losweken niet zo snel al zichtbaar). De stukjes vis zijn iets lichter van kleur geworden dan zij oorspronkelijk waren.
6,7 <i>Azijn</i>	De stukjes vis zijn wit geworden
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	De stukjes vis zijn wit geworden
12,13 <i>suiker</i>	Zeer opvallende verandering. Na een half uurtje is er een heleboel vocht uit de vis gekomen. Dit ligt buiten de vis in de vorm van een beetje een stroperige suikeroplossing. Verder is de vis na nog wat meer tijd licht bruin en een beetje doorzichtig aan het worden.
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering. (Hoewel moeilijk te zien: de vis zit onder het zout. Er gebeurt in ieder geval niet iets soortgelijks als bij suiker)
16,17 <i>drogen</i>	Tijdens het föhnen komt er vet uit de vis (door de hitte is dit blijkbaar vloeibaar geworden). Bovendien wordt de vis een beetje bruin door de warmte en krimpt hij door de verdamping.
18,19 <i>zuurstof</i>	Geen verandering
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Geen verandering
*18,19 <i>controle</i>	Geen verandering
*20,21 <i>controle</i>	Geen verandering

Datum: 16-11-'01 (dag 2)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	Op monster 4 zijn wat kleine witte vlokjes te zien. Dit is echter geen schimmel of bacterie, maar een of ander reactieproduct. Het is in zeer kleine mate aanwezig.
6,7 <i>azijn</i>	Geen verandering. (Vis is wit)
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	Geen verandering
12,13	Geen verandering

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

<i>suiker</i>	
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering
16,17 <i>drogen</i>	Geen verandering
18,19 <i>zuurstof</i>	Geen verandering
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Geen verandering
*18,19 <i>controle</i>	Geen verandering
*20,21 <i>controle</i>	Geen verandering

Datum: 19-11-'01 (dag 5)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	Geen verandering
6,7 <i>azijn</i>	Geen verandering
8,9 <i>vriezen</i>	Op de bodem is de vis een beetje groen geworden aan de rand
10,11 <i>water</i>	Het water is een beetje troebel geworden, de vis erg wit. Geen aanwijsbaar bederf.
12,13 <i>suiker</i>	De vis is doorzichtig en bruin (met verschillen in de intensiteit van bruinheid). Er is veel vocht onttrokken. Dit is echter niet als bederf te typeren.
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering
16,17 <i>drogen</i>	Hele kleine witte stipjes zichtbaar.
18,19 <i>zuurstof</i>	Vis is slijmerig en ietwat groen en geel. <i>Er is condens zichtbaar tegen de rand van de pot</i> Omdat de pot afgesloten is, kunnen we niet vaststellen of er sprake is van stank.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	De kleur is ongeveer hetzelfde gebleven. <i>Er is wat condens ontstaan</i>
*18,19 <i>controle</i>	De vis is geel en slijmerig geworden. We kunnen ook een sterke geur ruiken. Anders dan bij de kleine monsters (*20,*21) schemert er nog wat meer van de oorspronkelijke kleur door.
*20,21 <i>controle</i>	De vis is geel en slijmerig geworden. We kunnen ook een sterke geur ruiken.

Datum: 20-11-'01 (dag 6). Voor alle waarnemingen viel ons de walgelijke geur al op bij het betreden van het lokaal.

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5	Geen verandering

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

<i>alcohol</i>	
6,7 <i>azijn</i>	Geen verandering
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	Geen verandering
12,13 <i>suiker</i>	Geen verandering
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering
16,17 <i>drogen</i>	Geen verandering
18,19 <i>zuurstof</i>	Vis is helemaal geel geworden.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Geen verandering
*18,19 <i>controle</i>	Geen verandering
*20,21 <i>controle</i>	Geen verandering

Datum: 22-11-'01 (dag 8)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	De vis lijkt eerder droog te zijn dan vochtig. Dit leek ons enigszins vreemd, omdat de vis in een oplossing is gedoopt.
6,7 <i>azijn</i>	Geen verandering
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	Geen verandering
12,13 <i>suiker</i>	Geen verandering
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering
16,17 <i>drogen</i>	Op 17 heeft zich een witte schimmel ontwikkeld, die ongeveer een kwart van de oppervlakte beslaat. Hierbij moeten wij in herinnering houden dat 17 minder lang gedroogd is.
18,19 <i>zuurstof</i>	De vis is zeer slijmerig.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Nog steeds is er condens zichtbaar, de vis begint naar het witgele te nijgen.
*18,19 <i>controle</i>	De vis is erg slijmerig, maar niet zo erg als de monsters 18 en 19 (zuurstof).
*20,21 <i>controle</i>	Monster *21 is erg slijmerig, maar niet zo erg als de monsters 18 en 19 (zuurstof), terwijl *21 geen veranderingen heeft ondergaan.

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Datum: 27-11-'01 (dag 13)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	De monsters zijn nog verder ineengeschrompeld.
6,7 <i>azijn</i>	De vis is wat geel geworden
8,9 <i>vriezen</i>	De monsters zijn wat groen aan de onderkant
10,11 <i>water</i>	Vooral het water waarin monster 11 ligt, is zeer troebel. Er zweven stukjes vis in de vloeistof
12,13 <i>suiker</i>	Geen verandering
14,15 <i>zout</i>	De vis is een beetje groenig aan de onderkant
16,17 <i>drogen</i>	Monster 17 is nu in zijn geheel overwoekerd door de schimmel. Naast de witte schimmel is er nu ook een groene schimmel aan de onderkant ontstaan (een beetje op een hoek). Ook zijn er aan de onderkant wat oranje schimmeltjes en witte schimmeltjes ontstaan.
18,19 <i>zuurstof</i>	Het proces van verslijming is nog verder doorgezet.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	De vis is een tikkeltje slijmerig en een beetje geel
*18,19 <i>controle</i>	De monsters zijn slijmerig en karamelkleurig
*20,21 <i>controle</i>	*20 is donker karamelkleurig. *21 is bruin en slijmerig

Datum: 29-11-'01 (dag 15) (Er zijn foto's bij deze resultaten in de bijlage te zien)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	De monsters hebben een donkere kleur en er is een witte uitslag zichtbaar. Dit is echter geen schimmel. De monsters die met alcohol zijn behandeld lijken nu op de monsters die gedroogd zijn. Dit komt door de wateronttrekkende werking van alcohol.
6,7 <i>azijn</i>	De monsters zijn lichtgeel en hebben een beetje een vochtig uiterlijk.
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	Geen verandering
12,13 <i>suiker</i>	Aan de randen zijn de monsters nu wat gelig.
14,15 <i>zout</i>	Bij 14 lijkt er wat groens door het wit van het zout heen te schemeren op een van de hoeken.

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

16,17 <i>drogen</i>	Monster 16 is keihard (dat kun je horen aan het gerammel). Monster 17 heeft een donker uiterlijk onder de witte schimmel. De witte schimmel heeft nu alle andere kleuren schimmel overwoekerd.
18,19 <i>zuurstof</i>	Het slijm is een beetje wit.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Er is bij monster 21 redelijk veel vocht vrijgekomen en ook wat slijm. De kleur ligt nog redelijk dicht bij de oorspronkelijke kleur. Monster 20 heeft wel een gelig uiterlijk.
*18,19 <i>controle</i>	De monsters zijn zeer slijmerig en het slijm is ook wat wittig.
*20,21 <i>controle</i>	Deze monsters zijn minder slijmerig dan 18 en 19 en zijn donkerder van kleur.

Datum: 4-12-'01 (dag 20)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	Geen verandering
6,7 <i>azijn</i>	Monster 6 is caramellekleurig, monster 7 is donkergeel.
8,9 <i>vriezen</i>	Op meer plaatsen begint de groenige kleur zichtbaar te worden
10,11 <i>water</i>	Geen verandering
12,13 <i>suiker</i>	Op monster 12 is een klein grijs schimmeltje ontstaan Op monster 13 is een klein wit schimmeltje ontstaan.
14,15 <i>zout</i>	Aan de zijanten schemert de groene kleur door het zout heen.
16,17 <i>drogen</i>	Op monster 16 is nu een kleine hoeveelheid grijze schimmel ontstaan. Bij monster 17 heeft de roze schimmel de hele onderkant van de vis bedekt.
18,19 <i>zuurstof</i>	Er zitten olieachtige vlekken in het slijm.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Geen verandering
*18,19 <i>controle</i>	Geen verandering
*20,21 <i>controle</i>	Geen verandering

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Datum: 6-12-'01 (dag 22) (Bij deze waarnemingen zijn foto's genomen)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	Geen verandering
6,7 <i>azijn</i>	Geen verandering
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	Geen verandering
12,13 <i>suiker</i>	Op monster 12 hebben zich 2 grijze schimmels ontwikkeld, waarvan er een redelijk groot is en de ander zeer klein. Op monster 13 hebben zich 2 grote witte schimmels ontwikkeld en 3 zeer kleine grijze schimmels.
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering
16,17 <i>drogen</i>	Op monster 16 heeft de schimmel zich iets uitgebreid.
18,19 <i>zuurstof</i>	Geen verandering
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Monster 20 is helemaal geel, hoewel er in het dikkere deel nog steeds de oorspronkelijke roze kleur doorheen schemert. Monster 21 is wit en slijmerig
*18,19 <i>controle</i>	Geen verandering
*20,21 <i>controle</i>	Geen verandering

Datum: 10-12-'01 (dag 26)

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	Er zijn enkele kleine, gele vetdruppeltjes zichtbaar op de bodem van de petrischaal.
6,7 <i>azijn</i>	Monster 6 heeft de kleur van barnsteen. De stukjes glanzen wel een beetje, maar ze zijn niet vochtig.
8,9 <i>vriezen</i>	Schematisch zien beide stukjes vis er ongeveer zo uit: <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 40px; margin: 0 auto;"></div> </div> <p>Zijaanzicht vooraanzicht De gearceerde oppervlakte is bruingroen.</p>
10,11 <i>water</i>	Geen verandering (We hebben alleen deze mogelijk een laagje vloeistof ontdekt dat op het water drijft. Dit is echter niet zeker en daarom moeten we dit bij het openmaken van het potje nog even controleren)
12,13	Op monster 12 hebben zich 4 grijze schimmels ontwikkeld (waarvan er 1 groot is en er 1

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

<i>suiker</i>	wit is met een grijs puntje in het midden) en ook nog 3 schimmels op de suiker (allemaal klein en grijs) Op monster 13 zijn 3 kleine grijze schimmeltjes zichtbaar en 2 grote witte (waarvan er 1 een grijs puntje in het midden heeft)
14,15 <i>zout</i>	Geen verandering
16,17 <i>drogen</i>	Monster 17 is hard en droog. De schimmel heeft zijn donzigheid verloren. (De oppervlakte die de schimmel beslaat is gelijk gebleven, maar de spinnewebachtige structuur van de schimmel is gereduceerd tot een dun laagje gekleurd materiaal, dat de vis bedekt)
18,19 <i>zuurstof</i>	Terugblikkend op de gehele metamorfose van de stukjes, valt ons op dat ze aan volume ingeboet hebben.
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	Het valt nogmaals op dat deze stukjes veel minder slijmerig en geel zijn dan de monsters 18 en 19
*18,19 <i>controle</i>	De stukjes zijn bruin met wittig slijm. Ze zijn wel duidelijk minder slijmerig dan ze in het verleden geweest zijn.
*20,21 <i>controle</i>	Geen verandering

Datum: 12-12-'01 Dit is de laatste dag van het onderzoek; we hebben de potten en petri-schaaltjes opengemaakt en we hebben aan de vis geroken (voor zover onze fysieke beperkingen dat toelieten).

MONSTER	WAARNEMING
1,2,3 <i>verhitting</i>	Geen verandering
4,5 <i>alcohol</i>	Geen verandering
6,7 <i>azijn</i>	De stukken zijn allebei wat donkerder geworden
8,9 <i>vriezen</i>	Geen verandering
10,11 <i>water</i>	Monster 11 lijkt een beetje gelig. De geur is onbeschrijfelijk en niet te vergelijken met iets wat we ooit eerder geroken hebben (het monster stinkt)
12,13 <i>suiker</i>	De schimmels zijn nog wat groter geworden en bij monster 12 is er nog een schimmeltje bij gekomen.
14,15 <i>zout</i>	De vis is een beetje geelgroenig. Hij heeft geen sterke geur.
16,17 <i>drogen</i>	Geen verandering
18,19 <i>zuurstof</i>	De monsters zijn nu ook een beetje bruin geworden
20,21 <i>koolstofdioxide</i>	De monsters zijn iets bruiner geworden
*18,19 <i>controle</i>	Geen verandering
*20,21 <i>controle</i>	De monsters zijn droog en donker geworden.

Bijlage: Correspondentie Wageningen

Onze e-mail:

Beste Petra Naber,

Onze excuses voor het uitblijven van verduidelijking. We hebben ons reeds algemeen ingelezen wat betreft conservering, maar we zijn nog met een paar specifieke vragen blijven zitten. Voor het opstellen van onze hypothese moeten we de volgende dingen te weten komen:

- Welke vorm van bederf komt het meest voor bij vis? Gaat het hier om biochemisch bederf (enzymatisch) of biologisch bederf (schimmels of bacteriën)?
- Wij nemen aan dat fysisch en chemisch bederf (bijv. oxidatie) niet veel voorkomt bij vis. (wij scharen enzymatisch bederf onder biochemisch bederf) Is deze aanname correct?
- Kunnen de voor bederf van vis verantwoordelijke bacteriën / schimmels / enzymen nog nader worden benoemd (bijv. soort, leefgewoonte en andere eigenschappen).
- Met welke eigenschappen van vis hangt de vorm van bederf samen?
- Voor welke van de conserveringsmethoden zijn deze stoffen / soorten het gevoeligst (zijn bijvoorbeeld enzymen het grootste probleem dan veronderstellen wij dat een hoge temperatuur of een lage pH het beste resultaat zal geven) en waarom?

Hartelijk bedankt voor uw moeite, we zien uit naar uw respons.

Antwoord van 12 november 2001:

Hallo Joris,

Hier het antwoord op je vraag, ik hoop dat je er nog wat aan hebt!

groeten

Jorit Dekker

WO-campus

Welke vorm van bederf komt het meest voor bij vis?

Gaat het hier om biochemisch bederf (enzymatisch) of biologisch bederf (schimmels of bacteriën)?

De belangrijkste vorm van bederf treedt op met bacteriën die tegen kou kunnen. Vissen leven vaak in koud water. De bacteriën die je dus op en in vissen tegenkomt kunnen tegen kou. Bij koelkasttemperatuur (7 graden Celsius) kunnen deze bacteriën nog doorgroeien. Het is dus belangrijk verse vis op ijs te bewaren. Daarnaast kan het vet gaan oxideren in vette vissoorten (zoals b.v. zalm). Dit gebeurt vooral door bacteriën. Het vet kan ook gesplitst worden (=lipolyse) door enzymen in de vis. Dit laatste geeft een ranze smaak.

Wij nemen aan dat fysisch en chemisch bederf (bijv. oxidatie) niet veel voorkomt bij vis. (wij scharen enzymatisch bederf onder biochemisch bederf). Is deze aanname correct?

Omdat verse vis normaal op ijs wordt bewaard is het chemisch bederf te verwaarlozen (chemische vetoxidatie gebeurt wel, maar doordat dit langzamer optreedt dan de andere bederffactoren is het van ondergeschikt belang). Fysisch bederf kan wel optreden. Doordat de vis licht bevriest op het ijs, gaat het ijs in de cellen van de vis bevriezen. Dit ijs is vrij scherp en steekt de cellen kapot. Hierdoor gaat de celvloeistof uit de cellen. Dit zorgt voor een wat drogere vis.

Optimale temperatuur om de vis dus te bewaren is 0 graden Celsius: er groeien bijna geen bacteriën, het vet oxideert bijna niet en er treedt nog geen fysisch bederf op.

- Kunnen de voor bederf van vis verantwoordelijke bacteriën / schimmels / enzymen nog nader worden benoemd (bijv. soort, leefgewoonte en andere eigenschappen). Het gaat vooral op psychotrofe (=in kou groeiende) bacteriën.

Schimmels en enzymen zijn bij het bederf weinig van belang. Het gaat om een heel gemengde flora van bacteriën, die als enige overeenkomstige factor het groeien in kou hebben. Veel voorkomende micro-organismen op de vis zijn:

Micrococcus, Brochothrix, Proteus, Streptococcus, Pseudomonas, Acinetobacter en de Alxaligenes-groep.

- Met welke eigenschappen van vis hangt de vorm van bederf samen?

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Vette vis zal sneller last hebben van vetoxidatie en lipolyse. Vis uit warmer water (sardines) hebben bacteriën die minder goed in de kou groeien, dus deze vis zal (iets) minder snel bederven.

- Voor welke van de conserveringsmethoden zijn deze stoffen / soorten het gevoeligst (zijn bijvoorbeeld enzymen het grootste probleem dan veronderstellen wij dat een hoge temperatuur of een lage pH het beste resultaat zal geven) en waarom?

Als conservingsmethode is te kiezen voor 2 wegen:

1. ik wil een lang houdbaar product. Dit is bijvoorbeeld het geval bij vis in blik. Hierbij zorg je na het inblikken voor een sterke verhitting waardoor alle bacteriën die voor problemen kunnen zorgen dood gaan
2. ik wil een verse kort-houdbare vis. Door het marinieren van vis met een zure marinade gaat de pH van de vis omlaag en groeien de bacteriën langzamer. Hierdoor wordt je product niet heel lang houdbaar, maar de houdbaarheid is hiermee te verlengen van 3 dagen (verse vis) naar 7-10 dagen.

Onze e-mail:

Geachte Jorit Dekker,

Allereerst moet ik u hartelijk bedanken voor uw snelle antwoorden op de dringende vragen die wij hadden bij het opzetten van onze proeven. We hebben inmiddels de proeven opgezet en hebben al een aantal waarnemingen gedaan, waarvoor we van u een verklaring zouden willen weten: - Op de vis die we ongeconserveerd hebben gelaten en de vis die we in een zuurstofvrije omgeving hebben gebracht, heeft zich in een slijmlaag gevormd en de vis is geliger en bruiner geworden. Ook op de vis die in een koolstofdioxide omgeving is bewaard is, weliswaar in mindere mate, een slijmlaag ontstaan. - Op een stukje vis wat we korte tijd met een föhn hebben gedroogd heeft zich een witte en een groene schimmel gevormd. Waarom hier wel en niet op de normale stukken vis? Bedankt voor uw moeite,

Het antwoord van 27 november 2001:

Hallo Joris, hier het razendsnelle antwoord van de viskenner, die toevallig een directe collega is, dus vandaar! groet Jorit

De antwoorden op deze vraag geef ik in een keer, omdat het op hetzelfde neerkomt. Als je vis droogt aan de buitenkant, droog je ook bacteriën uit. Bacteriën hebben vocht nodig om te groeien. Als dat er niet is, groeien ze niet. Schimmels daarentegen hebben veel minder vocht nodig, zelfs met kleine spoortjes vocht kunnen ze al groeien. Zelfs zonder vocht kunnen bepaalde soorten groeien door vocht uit de lucht te halen. Maar schimmels groeien niet zo snel als bacteriën. In een vochtige omgeving groeien bacteriën dan zo snel dat schimmels geen kans krijgen ook nog te gaan groeien. In een vochtige stuk vis zullen dus vrijwel alleen bacteriën groeien. De slijmvorming op de ongedroogde vis zijn suikers die door veel bacteriën worden gevormd. Welke bacterie is moeilijk te zeggen, omdat er meerdere slijmvormende bacteriën op vis voorkomen. In dit slijm zijn ook enzymen aanwezig om de vis te verteren (waardoor de bacteriën weer meer voedingsstoffen krijgen om verder te groeien). Hierin zitten bepaalde vet en eiwit afbrekende enzymen tussen. Deze afbraak zorgt voor zowel kleurverandering als stankvorming. Ik hoop hiermee je vragen beantwoord te hebben!

Onze e-mail

Geachte Jorit Dekker,

Hartelijk bedankt voor het wel zeer snelle, heldere antwoord. Hierdoor zijn wij aangemoedigd om nog meer vragen te stellen (Niet om u te ontmoedigen om snel te antwoorden natuurlijk!).

- 1). Wat is de invloed van een hypertonische omgeving op de groei van schimmels (in ons geval is er veel suiker of zout in de omgeving aanwezig)? Wordt er bijvoorbeeld vocht onttrokken aan de schimmels en zijn ze hier gevoelig voor? (U vertelde in uw antwoord, dat sommige schimmels zelfs water aan de lucht kunnen onttrekken. Kunnen zij dit echter ook vast houden in een hypertonische omgeving)

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

- 2). Zijn de meeste bacteriën op forel aëroob, en zo ja hoe is dit dan te verklaren gezien hun oorspronkelijke milieu (rivierwater)? Of zitten ze in de vis en kunnen ze hier wel zuurstof opnemen? (De vis die we in een zuurstofrijke omgeving hebben bewaard is heel slijmerig geworden, de vis in de koolstofdioxide omgeving is minder slijmerig. Kunnen we hieruit concluderen dat er vooral aërobe bacteriën op de vis zitten?)

Hoogachtend,

Joris Broeders

Het antwoord van 28 november 2001:

Hoi Joris Broeders,

Ik ben de 'visspecialist' bij VWO-campus en zal vanwege de vele vragen rechtstreeks naar jullie antwoorden i.p.v. via Jorit.

- 1). Wat is de invloed van een hypertonische omgeving op de groei van schimmels (in ons geval is er veel suiker of zout in de omgeving aanwezig)? Wordt er bijvoorbeeld vocht onttrokken aan de schimmels en zijn ze hier gevoelig voor? (U vertelde in uw antwoord, dat sommige schimmels zelfs water aan de lucht kunnen onttrekken. Kunnen zij dit echter ook vast houden in een hypertonische omgeving)
 - Schimmels kunnen heel goed tegen een hypertone omgeving. Ze verliezen (bijna) geen vocht, zelfs in een hypertone omgeving. Dit in tegenstelling tot bacteriën die niet kunnen leven in een hypertoon milieu.
- 2). Zijn de meeste bacteriën op forel aëroob, en zo ja hoe is dit dan te verklaren gezien hun oorspronkelijke milieu (rivierwater)? Of zitten ze in de vis en kunnen ze hier wel zuurstof opnemen? (De vis die we in een zuurstofrijke omgeving hebben bewaard is heel slijmerig geworden, de vis in de koolstofdioxide omgeving is minder slijmerig. Kunnen we hieruit concluderen dat er vooral aërobe bacteriën op de vis zitten?)
 - Er zitten zowel anaërobe als aërobe bacteriën op en in een vis. Beide slechts in kleine hoeveelheden, omdat er weinig voedingsstoffen voor de bacteriën zijn. Als je vis onder aërobe omstandigheden bewaart, zal deze dan ook door de aërobe bacteriën overgroeid worden. In een anaërobe omgeving geldt het omgekeerde hiervan. Het verschil in slijmerigheid heeft er meer mee te maken dat in aërobe omgeving aërobe bacteriën groeien die meer slijm produceren dan de anaërobe bacteriën die onder anaërobe omstandigheden groeien. Daarnaast kunnen aërobe bacteriën in het algemeen al veel sneller groeien dan anaërobe bacteriën (aërobe bacteriën kunnen uit dezelfde hoeveelheid voedingsstoffen 10 keer zoveel energie genereren vergeleken met anaërobe bacteriën).

Met vriendelijke groet en succes met jullie verslag,

Kasper Hettinga

Onze e-mail

Geachte Kasper Hettinga,

Ons onderzoek roept al maar weer vragen op. We hopen dat u het nog niet moe bent ze te beantwoorden. Hier volgt de lijst:

- 1 Waardoor verkleurt de vis in water? (hij wordt wit)
- 2 Kunnen schimmels, net als bacteriën ook sporen vormen (persistente overlevingsvormen)?
- 3 Zijn schimmels altijd aëroob
- 4 Welke eigenschappen hebben schimmels waardoor ze geen vocht verliezen in een hypertone omgeving?

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

- 5 Waardoor ontstaan de verschillende kleurveranderingen in het bedervingsproces van vis? (de roze kleur verdwijnt en de vis wordt geel en bruin)
- 6 Is er een verschil tussen mechanische beschadiging en fysisch bederf? (U gaf in een van uw vorige antwoorden het voorbeeld van vis die tijdens bevrozing lek wordt gestoken door ijskristallen die binnen in de vis ontstaan en we zien geen duidelijk onderscheid die op deze manier ontstaat en een beschadiging die ontstaat door van buiten de vis er met ijs in te prikken (mechanische beschadiging))
- 7 Wat zijn de belangrijkste reactievergelijkingen bij bederf van forel? (bijvoorbeeld voor de slijmvorming)
- 8 Wat is rotting precies? Is gisting een proces dat onder rotting valt? (onder rotting verstaat de encyclopedie zoiets als het afbreken van eiwitten door bacteriën waarbij de afbraakproducten worden omgezet. Omgezet waarin? En bij gisting zouden verbindingen met grote moleculen worden omgezet in verbindingen met kleine moleculen. Wat is dan het verschil tussen rotting en gisting?)
- 9 We hebben vier oorzaken van bederf gevonden: fysische, chemische, biochemische en biologische oorzaken. Tot welke van deze groepen behoort fysiologische veroudering?
- 10 Gaat een bacterie dood in een hypertone omgeving of wordt hij alleen onwerkzaam zolang hij in die omgeving verkeert?

Hartelijk dank voor uw inspanningen,

Joris Broeders

Het antwoord van 4 december 2001:

Hoi Joris,

Ik kon vanwege drukte hier niet eerder reageren. Hieronder zal ik zo goed mogelijk per vraag aangeven wat het antwoord is.

- 1 Waardoor verkleurt de vis in water? (hij wordt wit)
Een vis bevat minder hemoglobine dan vlees (dit is de rode bloedkleurstof). Hierdoor is veel vis wit. Zalm is ook wit van nature, maar door het eten van garnaltjes en krabbetjes wordt de zalm roze. Tegenwoordig wordt zalm gekweekt en komt de roze kleur van kleurstof, omdat mensen geen witte zalm willen. Bepaalde vis (bv. makreel/tonijn) bevat veel meer bloed. Deze vissen hebben dan ook een roder vlees.
- 2 Kunnen schimmels, net als bacteriën, ook sporen vormen (persistente overlevingsvormen)? Schimmels hebben sporen die uitkomen als er gunstige leefomstandigheden zijn. Deze sporen zijn qua structuur niet te vergelijken met bacteriesporen. Ook zijn schimmelsporen gevoeliger voor hitte dan bacteriesporen.
- 3 Zijn schimmels altijd aëroob?
Ja.
- 4 Welke eigenschappen hebben schimmels waardoor zegeen vocht verliezen in een hypertone omgeving?
Celwandstructuur zorgt voor goede afsluiting van celinhoud t.o.v. buitenwereld. Daarnaast is het milieu in een schimmel ook van een redelijk hoog osmolariteit, wat de verliezen nog verder beperkt.
- 5 Waardoor ontstaan de verschillende kleurveranderingen in het bedervingsproces van vis? (de roze kleur verdwijnt en de vis wordt geel en bruin)
Roze kleur komt van hemoglobine. Dit oxideert in de lucht: wordt geel. Eiwit en vet is wit/kleurloos. Door oxidatie/afbraak hiervan worden gele en bruine componenten gevormd (bepaalde vetzuuroxidatieproducten en bepaalde oligopeptiden)

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

- 6 Is er een verschil tussen mechanische beschadigingen fysisch bederf? (U gaf in een van uw vorige antwoorden het voorbeeld van vis die tijdens bevroering lek wordt gestoken door ijskristallen die binnen in de vis ontstaan en we zien geen duidelijk onderscheid die op deze manier ontstaat en een beschadiging die ontstaat door van buiten de vis er met ijs in te prikken (mechanische beschadiging))
Door bevriezen worden cellen lekgeprik. Hierbij wordt ELKE cel in theorie aangevallen. Met mechanische beschadiging beschadig je een klein deel van de cellen heel erg. De rest blijft hierbij relatief onbeschadigd. Bij veel beschadigde cellen zal het vocht uit de cel lekken en zal de vis droog proeven (je voelt/ziet hier dan nog weinig van). Je kan het zo uitproberen. Doe een stukje vis in de koelkast, doe een ander stukje in de vriezer. Zodra dit bevroren is ontdooi je het weer en vries je het weer in. Als je nu beide stukje vis bereid zal je een duidelijk verschil proeven.
- 7 Wat zijn de belangrijkste reactievergelijkingen bij bederf van forel? (bijvoorbeeld voor de slijmvorming)
Het gaat hier vooral om gluconeogenese, oftewel aanmaak van suikers door de vis. Dit zijn hele complexe reacties waar geen echte reactievergelijkingen van bekend zijn. In de praktijk worden deze reacties vaak omschreven. B.v. bij vetoxidatie worden meer dan 100 oxidatie producten gevormd: dat is niet echt makkelijk om daar een vergelijking van te maken...
- 8 Wat is rotting precies? Is gisting een proces dat onder rotting valt? (onder rotting verstaat de encyclopedie zoiets als het afbreken van eiwitten door bacteriën waarbij de afbraakproducten worden omgezet. Omgezet waarin? En bij gisting zouden verbindingen met grote moleculen worden omgezet in verbindingen met kleine moleculen. Wat is dan het verschil tussen rotting en gisting?)
Vaak wordt rotting door gist gewoon gistrotting genoemd. Rotting is de natuurlijke afbraak van een product, dus door b.v. gist, maar ook door b.v. bacteriën. Gisting is dus een specifiek soort rotting: rotting door gistcellen. Hierbij worden inderdaad van grote moleculen (eiwitten) kleinere moleculen gevormd (oligopeptiden).
- 9 We hebben vier oorzaken van bederf gevonden: fysische-, chemische-, biochemische- en biologische oorzaken. Tot welke van deze groepen behoort fysiologische veroudering? Fysiologische veroudering is een term die ik zou gebruiken voor de combinatie van alle soorten bederf, en de mate waarin elk soort bederf meetelt, het lijkt me niet een specifieke reactie (of bedoel je met fys. veroudering een specifiek verschijnsel)
- 10 Gaat een bacterie dood in een hypertone omgeving of wordt hij alleen onwerkzaam zolang hij in die omgeving verkeert?
Hangt van het type bacterie af. Sommige bacteriën worden gedood, maar de meeste worden alleen onwerkzaam gemaakt. Een zoute vis weken in water, en dit water vaak verversen kan ervoor zorgen dat de bacteriën weer tot leven komen.

Ik hoop dat jullie weer wat verder komen. Ik vindt het goede vragen die stellen. Zou ik een digitale kopie van jullie verslag toegemailed kunnen krijgen als jullie klaar zijn, ik ben wel benieuwd!

Met vriendelijke groet,

Kasper Hettinga

Onze e-mail

Tilburg 10 december 2001

Geachte Kasper Hettinga,

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Hierbij ontvangt u wat waarschijnlijk onze laatste vragen zijn aangaande ons profielwerkstuk (we moeten het donderdag inleveren, "snik")

- 1 De schimmel op het gedroogde stukje vis is minder "donzig" geworden, hoewel de oppervlakte die de schimmel bestrijkt gelijk is gebleven. Dit komt misschien door een gebrek aan vocht (de vis is namelijk keihard en omdat wij petri-schaaltjes gebruiken, is het niet uitgesloten dat er vocht uit de schaal kan ontsnappen. Lijkt dit u een plausibele verklaring?
- 2 Het slijm op de ongeconserveerde vis begint wittig te worden. Waarom?
- 3 Waarom worden sommige monsters groen (gezouten en bevroren monsters), terwijl andere geel en bruin (de ongeconserveerde stukjes) worden?
- 4 De ongeconserveerde stukjes beginnen minder slijmerig te worden (er is minder vocht op het oppervlak van de vis). Hebt u hier een verklaring voor?

Nogmaals dank voor uw moeite.

Hoogachtend,

Joris Broeders

Het antwoord van 11 december 2001:

Hoi Joris,

- 1 De schimmel op het gedroogde stukje vis is minder "donzig" geworden, hoewel de oppervlakte die de schimmel bestrijkt gelijk is gebleven. Dit komt misschien door een gebrek aan vocht (de vis is namelijk keihard en omdat wij petri-schaaltjes gebruiken, is het niet uitgesloten dat er vocht uit de schaal kan ontsnappen. Lijkt dit u een plausibele verklaring?
 - * Een schimmel kan overleven met een kleine hoeveelheid vocht. Maar hoe snel de schimmel groeit (oftewel hoe donzig hij wordt) is afhankelijk van de hoeveelheid vocht. Dus als er heel weinig vocht is zal de schimmel niet sterk groeien en niet donzig worden. Het uitdrogen in een petrischaaltje lijkt daarvoor een logische oplossing ja.
- 2 Het slijm op de ongeconserveerde vis begint wittig te worden. Waarom?
 - * Bacteriën breken het vet en eiwit af. Dit zorgt voor het gekleurde slijm. Langzaam zullen de bacteriën dit gaan gebruiken voor hun energievoorziening, waarbij CO₂ en water wordt gevormd terwijl de vet- en eiwitafbraakproducten verdwijnen. Hierdoor verdwijnt de kleur. Omdat de geurdrempel voor de afbraakproducten heel laag is, zal je het nog wel ruiken, maar waarschijnlijk zal de stank minder worden.
- 3 Waarom worden sommige monsters groen (gezouten en bevroren monsters), terwijl andere geel en bruin (de ongeconserveerde stukjes) worden?
 - * Verschillende micro-organismen overleven beter op bepaalde monsters. Er zal dus bij de verschillende monsters een ander type micro-organisme zijn dat in grote hoeveelheid voorkomt op de vis. Elk soort micro-organisme heeft een eigen metabolisme, waardoor de kleur van de micro-organismen en de uitscheidingsproducten ervan verschillen. Op de geconserveerde monsters zal eerder een besmetting zitten die bv. sporen vormt en de conservering overleefd. Dit is waarschijnlijk niet dezelfde populatie als die op de verse ongeconserveerde vis.
- 4 De ongeconserveerde stukjes beginnen minder slijmerig te worden (er is minder vocht op het oppervlak van de vis). Hebt u hier een verklaring voor?
 - * uitdroging

Profielwerkstuk *Ars conservandi Salmones Truttas*

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

Succes met de afronding van jullie werkstuk deze week!

Met vriendelijke groet,

Kasper Hettinga

Bijlage: Het plan van aanpak

Plan van aanpak profielwerkstuk

Martijn Verhagen & Joris Broeders

Hoofdvraag: Hoe kun je vis het beste conserveren?

Deelvragen: Orientatie:

1. Wat is bederf?
 2. Wie of wat veroorzaakt bederf?
 3. Welke factoren zijn van belang voor het bederf van vis?
 4. Welke methoden van conservering van vis zijn gangbaar?
- Onderzoek
5. Welke methode werkt het beste in de praktijk?

Welke concrete activiteiten moeten worden uitgevoerd en wat is de planning

Activiteit	Week
- Informatie zoeken in de OBt. (krantenbank en boeken) - In de les informatie zoeken op internet.	39
- Proberen nadere informatie van Wageningen te krijgen (Center for food sciences) - In biologielokaal zoeken in de boekenkast - Gesprek met PWS begeleider; contact 2.	40
- Globaal lezen van bronnen om de relevante passages te selecteren en eventueel nieuwe zoektermen te vinden. - Vervolg zoektocht op internet - Contract aanvragen voor de les. Thuis op schrift stellen welke antwoorden wij in het door ons verzamelde materiaal hebben gevonden op de deelvragen	41
- vakantie (mogelijk: eventueel inhalen van achterstallige werkzaamheden) - Joris: werkt deelvraag 4 af.	42
- Vervolg zoektocht internet -	43
- Compoweek -	44
- 8 november: contact met begeleider over het vergaarde materiaal - Uitwerken plannen voor onze experimenten (wat gaan we doen, hoe gaan we het doen, waar gaan we het doen). - Aanvang experimenten	45
- Formuleren hypothese op grond van het door ons verzamelde materiaal 6. Uitwerken hoofdstuk 1,2 (Martijn) 3 (Joris) 7. Uitvoeren experimenten	46
- Uitvoeren experimenten - Schrijven inleiding, voorwoord.	47
- Uitvoeren experimenten	48

Profielwerkstuk Ars conservandi Salmones Truttas

Martijn Verhagen & Joris Broeders

© havovwo.nl (dec 2001)

- Uitvoeren experimenten - eventuele resultaten noteren	49
- Resultaten verwerken (tabellen, diagrammen e.d.) - Trekken van conclusies op grond van de resultaten	50
- literatuurlijst afmaken. - laatste hand leggen aan voorlopige versie. - 20 december proefversie inleveren.	51
- kerstvakantie - titelblad, inhoudsopgave en begrippenlijst maken	52
- kerstvakantie - ruimte om achterstanden op de planning in te halen	01
- schrijven evaluatie, verbeteringen aanbrengen. - 9 januari inleveren uiteindelijke versie.	02
- mondelinge toelichting op product en procesevaluatie	05

We zijn van plan ons onderzoek, grotendeels gezamenlijk uit te voeren. We zullen samen naar informatie gaan zoeken en practica en dergelijke zullen samen worden op gezet. Het zal natuurlijk voorkomen dat we taken, zoals het verwerken van resultaten, in een later stadium opsplitsen. Dit is echter niet te plannen en er zal later, afhankelijk van omstandigheden, bepaald worden, hoe we de werkzaamheden zullen verdelen.

Wij gaan gebruik maken van boeken uit de bibliotheek, informatie die ons door deskundigen wordt verstrekt (Center for food sciences van Wageningen), internetbronnen, krantenbanken, kennis van onze leraren en misschien onze leerboeken van Biologie en Scheikunde (wat betreft practica e.d.).

Informatie

We hebben inmiddels een groot gedeelte van de bronnen die we op het oog hadden verzameld. De informatie hieruit hebben we verwerkt onder de kopjes van de verschillende deelvragen. Deze losse stukjes zullen in een later stadium tot een goedlopend verhaal moeten worden omgevormd. De essentiële, praktische informatie voor de opzet van proeven zullen we nog uit onze leerboeken van Biologie en Scheikunde moeten bestuderen. Ook zullen we hiervoor nog bij de begeleidende docenten en bij de universiteit Wageningen te rade moeten gaan. Tevens zullen we nog enkele biologische feiten moeten controleren met meneer de Vries.

Proeven

Bij onze proeven gaan we ervan uit dat het conserveerde product, de sterkst mogelijke conservering ondergaat zonder dat de menselijke gezondheid schade ondervindt. We zullen hiertoe moeten achterhalen in hoeverre het menselijk lichaam tegen een bepaalde pH bestand is (andere methoden zullen geen probleem opleveren). Een aantal van de factoren die wij hebben gevonden, als zijnde van invloed op de groei van micro-organismen en de activiteiten van enzymen hebben wij zelf in de hand. De temperatuur, de aanwezigheid van "vrij" water, de osmotische waarde en de zuurgraad van de omgeving en samenstelling van de atmosfeer kunnen we voor onze proeven manipuleren. Al onze proeven zullen we op eenzelfde moment starten, om voldoende tijd te hebben om de producten te laten bederven. We zullen één vis in stukjes snijden en voor iedere proef twee stukjes op dezelfde wijze conserveren. De omstandigheden voor deze stukjes zullen hetzelfde zijn, met uitzondering van de specifieke omstandigheid waarop we ze testen. Verder laten we ook twee ongeconserveerde stukjes over, ter vergelijking. Alle stukjes vis zullen luchtdicht worden verpakt, omdat dit de proeven vergemakkelijkt. We zullen een maximale hoeveelheid suiker en zout oplossen, de toegestane hoeveelheid zuur toevoegen, de vis in een vacuüm bewaren, invriezen, gedurende een korte periode verhitten, zuurstof toevoegen, koolstofdioxide toevoegen en de vis drogen.