

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

Over den structureelen bouw van kaas

DOOR

E. HEKMA.

(Ingezonden 10 April 1926).

Wanneer men van Edammer of Goudsche kaas vriesmikrotoom-coupes vervaardigd — hetzij al dan niet na voorafgaande fixatie, bijv. in formol — dan valt bij bezichtiging der ongekleurde coupes onmiddellijk op, dat zij zijn doorweven door een kanalsysteem. Dit kanalsysteem strekt zich eensdeels uit tot onder of in de korst en blijkt andersdeels in verbinding te staan met kleinere en grotere openingen in de kaassubstantie. Meer valt in zulke ongekleurde doorsneden nauwelijks waar te nemen.

Dit is wel het geval wanneer men naar de regelen der histologische techniek door kleurstoffen een differentiatie tusschen sommige kaasbestanddeelen teweeg brengt. Tot dit doel vond toepassing: kleuring der gefixeerde coupes met Sudan III, haematoxyline en methyleenblauw; de beide laatste eventueel in combinatie met de eerste, waarbij als volgt werd te werk gegaan. Uit een middenschijf der te onderzoeken kaas, ter dikte van $\pm \frac{1}{2}$ c.M., snijdt men een reep, ter breedte van $\frac{3}{4}$ à 1 c.M., en neemt daarvan de helft, dus een reep ter lengte van den straal der kaas. Dezen reep verdeelt men in twee of meer deelen, waardoor men ten slotte langwerpige blokjes heeft verkregen van een dusdanige lengte, breedte en dikte, dat zij met het vriesmikrotoom gesneden kunnen worden. Men kan natuurlijk ook de blokjes insluiten in paraffine of celloïde en aldus fijnere coupes verkrijgen, maar daarover bij eene andere gelegenheid.

Het volgende heeft dus enkel betrekking op vriesmikrotoom-coupes.

De langwerpige blokjes worden, na fixatie in 4—8 % formol, eenigen tijd in water gelegd, terwijl vervolgens met het vriesmikrotoom coupes worden vervaardigd. De coupes worden overgebracht in 50 % alcohol (5 min.) en daarna gekleurd; bij een gecombineerde kleuring van het vet, dat naar men weet door Sudan wordt gekleurd, en van de door haematoxyline of methyleenblauw kleurbare bestanddeelen,

2083580

worden de coupes eerst gebracht in een verzadigde oplossing van Sudan III in alcohol van 70 % (30 min. of langer); afspoelen in 50 % alcohol; uitwasschen in aq. dest. Vervolgens worden de coupes gekleurd, hetzij met haematoxyline, ¹⁾ gedurende 1—3 minuten, hetzij met methyleenblauw ²⁾ gedurende 10 à 15 seconden. Coupes uitwasschen in leidingwater; insluiten in glycerine. Wil men de preparaten bewaren, dan omrandt men het dekglas met een laagje parafine en eventueel vernis.

Van de aldus vervaardigde mikroskopische preparaten vindt men het vet oranje- tot scharlakenrood gekleurd, terwijl de door haematoxyline of methyleenblauw teweeg gebrachte contrastkleur in het blauw speelt. Bij mikroskopische bezichtiging der preparaten treedt in de eerste plaats het boven reeds aangeduide kanalsysteem aanmerkelijk duidelijker aan den dag dan in de ongekleurde coupes het geval is.

De kanalen onspinnen de wrongeldeeltjes, waaruit de kaas is opgebouwd; plaatsen waar meerdere wrongeldeeltjes op onregelmatige wijze samentreffen, vormen blijkbaar de plaats van praedilectie voor het ontstaan van gaatjes en oogen in de kazen. Wat de wrongeldeeltjes betreft, is het opvallend, dat deze zeer sterk wisselen in vorm en grootte. Doordat men ook uiterst kleine deeltjes aantreft, komt onwillekeurig de gedachte op, of men wel uitsluitend met wrongeldeeltjes heeft te doen en een deel dier deeltjes niet zijn ontstaan dankt aan het stremmingsproces. Als dat zoo was, dan zou men in de afzonderlijke wrongeldeeltjes uit den kaasbak ook kanalen moeten aantreffen.

Een opzettelijk daaromtrent ingesteld onderzoek heeft evenwel uitgemaakt, dat het laatste niet het geval is, zoodat de door de kanalen omgeven deeltjes in de kaas inderdaad zonder uitzondering als wrongeldeeltjes, zooals ze in den kaasbak worden gevormd, moeten worden beschouwd, met inbegrip van de allerkleinste („stofwongel”).

Met het bloote oog zijn de kanalen en de wrongeldeeltjes in den doorgesneden kaas gewoonlijk niet te zien. Bij sommige, blijkbaar abnormale kazen, is dit echter wel het geval; de kaas heeft dan op doorsnee een gemarmerd voorkomen.

1) Haematoxyline $C_{16}H_{11}O_6$, stof uit campèchehout, kleurt eerst goed na oxydatie tot haematein, $C_{16}H_{12}O_6$. Gebruikt werd in casu een volgens HANSEN op de volgende wijze bereide oplossing:

a. 1 gram gekristalliseerde haematoxyline wordt op gelost in 10 c.c. alcohol absol.;

b. 20 gram kalialuin wordt opgelost in 200 c.c. heet aq. dest.; na bekoeling filtreren.

c. 1 gram kalium permanganaat wordt bij kamertemperatuur opgelost in 16 c.c. aq. dest.
Den volgenden dag worden de oplossingen a en b in totaal vermengd met 3 c.c. van de oplossing c en onder roeren in een porceleinen schaal verhit tot koken (\pm 1 min. laten doorkoken). Snel afkoelen. Filtreren. De aldus bereide oplossing is wel is waar dadelijk voor het gebruik gereed, maar als men haar eenigen tijd bewaart, rijpt zij na, waardoor het kleurvermogen sterker wordt.

2) 1 c.c. van een waterige methyleenblauw-oplossing verdunnen met 10 à 15 c.c. eener oplossing van physiologisch keukenzout. Concentratie der gebruikte oplossing dus: 1/10 tot 1/15 %.

Uit den aard der zaak kan een vergelijkend histologisch onderzoek van handwerk- en machinaal bereide kaas ons een cordeel verschaffen omtrent de meerdere of mindere gelijkmatige verdeling der wrongel, wat de grootte der wrongeldeeltjes betreft. Een dergelijk onderzoek heeft plaats gevonden ten opzichte van een aantal handwerk- en machinaal bereide kazen, die welwillend ter beschikking zijn gesteld door de Friesche Coöperatieve Zuivel-Export Vereeniging, en die genomen waren uit de seriën kazen, welke waren vervaardigd naar aanleiding van de door een Commissie uit den Bond van Coöperatieve Zuivelfabrieken in Friesland verrichte proefnemingen, betreffende de machinale kaasbereiding. ¹⁾

Opvallende verschillen wat betreft het kanalensysteem, de grootte en vorm der wrongeldeeltjes en de localisatie van het vet en de eiwitstoffen — waarover later — zijn daarbij niet aan den dag getreden.

In de wrongeldeeltjes zijn de vetbolletjes voor een groot deel nog als zoodanig, in geïsoleerden toestand dus, aanwezig, óók in kazen die reeds enkele maanden oud zijn, terwijl zij voor een ander deel zijn samengevloeid of klompjes vormen. In de kanalen zelf treft men slechts weinig vet aan, daarentegen wel substantie, die door methyleenblauw en gedeeltelijk ook door haematoxyline, gelijkmatig blauw wordt gekleurd. Wat de haematoxylinekleuring betreft, blijft de inhoud der kanalen van het randgedeelte der kaas, ter breedte van $\frac{1}{2}$ à 1 c.M., vrijwel ongekleurd — althans bij normale kazen, bij kazen met z.g. witten rand bijv. is het anders — terwijl van af het randgedeelte naar het centrum toe de intensiteit der kleuring toeneemt. Door methyleenblauw wordt de inhoud der kanalen van af de korst tot het centrum gekleurd, maar toch in het randgedeelte veel minder intensief. Een en ander wijst er op, dat er in de kanalen meer dan één kleurbare substantie voorkomt; de vraag met welke substanties men daarbij heeft te doen, waarbij gedacht kan worden aan kalkzouten, weialbumine, caseïne, resp. paracaseïne, moet voorshands in het midden worden gelaten. Slechts dit kan gezegd worden, dat de gelijkmatige homogene kleuring er op wijst, dat wij hier te doen hebben óf met substantie, die te voren in oplossing in den inhoud der kanalen aanwezig was en door de formolfixatie in uiterst fijn verdeelden toestand is geprecipiteerd, óf wel met substantie, die te voren reeds — onder den invloed van zout + zuur? — in uiterst fijn verdeelden geprecipiteerden toestand in de kanalen voorkomt.

Hierbij zij opgemerkt, dat het mij voorkomt, dat wij, wat den inhoud der kanalen als zoodanig betreft, vermoedelijk met wei, resp. weiresten, hebben te doen. Behalve de vorenbedoelde substantie treft men in de kanalen — en soms ook in de wrongeldeeltjes zelf — ronde vormsels aan, die zoowel door methyleenblauw als door haematoxyline worden gekleurd. Het aantal dezer vormsels loopt in verschillende kazen zeer uiteen. Zij kunnen in de kanalen hier en daar zoo sterk opgehoopt zijn, dat het kanaal wordt verstopt, om zoo te zeggen

1) Men zie: Mededeelingen van de Commissie voor machinale kaasbereiding, Bond van Coöperatieve Zuivelfabrieken in Friesland, Januari 1926.

„gethrombotiseerd”. Ze werden gevonden in alle tot nu toe onderzochte kazen, hoewel ik den indruk heb gekregen, dat hun aantal in uit gepasteuriseerde melk bereide kaas grooter is dan in die uit ongepasteuriseerde. Deze vormsels zijn vermoedelijk tevens de oorzaak van het verschijnsel, dat men in sommige kazen aantreft, dat zij zich op doorsnee hier en daar reeds mikroskopisch eenigszins ruw, ribbelig voordoen. Omtrent den naderen aard der hierbedoelde vormsels is een nader onderzoek in gang. Naar de voorloopig verkregen uitkomsten komt het mij voor, dat men hier met vormsels van verschillende aard heeft te doen; wellicht voor een deel met sphaeriten van phosphore kalk, die vroeger reeds door Boekhout ¹⁾ uit de kaas zijn geïsoleerd en beschreven geworden en voor een ander deel met schuimblaasjes en vliesjes, in welke wand een kleurbare substantie aanwezig is. Afgezien van de hierbedoelde vormsels ontmoet men nu en dan, met name in preparaten van uit gepasteuriseerde melk bereide kaas, leukocyten. Deze waarneming doet uit den aard der zaak opnieuw de gedachte opkomen, of wellicht door de leukocyten een rol zou kunnen worden gespeeld bij de kaasrijping, welke vraag overigens voor het experiment niet toegankelijk schijnt.

Wat betreft de beteekenis van het feit, dat de Edammer en Gouda kaas, zoowel die, welke bereid is uit gepasteuriseerde als uit ongepasteuriseerde melk, en zoowel 40 +, 30 + als 20 + kaas doorweven is door een kanalsysteem, ligt de aanname voor de hand, dat door deze kanalen een zeer belangrijke rol moet worden gespeeld bij de vocht- en stof- (eventueel zout-) wisseling in de kaas. In verband hiermede zou men geneigd kunnen zijn, het aan den dag getreden verschil tusschen den inhoud van de kanalen van het randgedeelte en van dien in de meer naar binnen gelegen rest, toe te schrijven aan de gevolgen van een vocht- en stofwisseling onder den invloed van het zouten der kaas. Toch kan de oorzaak van het genoemde verschijnsel niet, althans niet alleen, in deze richting worden gezocht, omdat men hetzelfde verschijnsel eveneens aantreft bij geheel onge-zouten kazen.

Opmerkelijk is dat er reeds bij makroskopische bezichtiging der mikroskopische preparaten een verschil in kleuring valt waar te nemen, zoowel bij de coupes, welke zijn gekleurd met Sudan en methyleenblauw als met Sudan en haematoxyline. Zulks in dier voege dat in het randgedeelte het vet zuiverder oranjerood is gekleurd, waardoor dit randgedeelte zich duidelijk afscheidt van de donkerder gekleurde rest. Hetzelfde valt trouwens ook op bij de beschouwing van op dezelfde wijzen gekleurde makroskopische kaasschijven. Ten einde te trachten om omtrent de oorzaak van dit verschijnsel eenig nader uitsluitsel te krijgen, met name omtrent de vraag of en hoeverre dit verschijnsel in verband zou kunnen staan met de localisatie van vet en andere stoffen, in casu vooral eiwitstoffen, in de kaas, zijn een aantal kazen aan analyse onderworpen geworden. Het betreft hier

1) Verslag der Vereeniging tot Exploitatie eener Proefzuivelboerderij te Hoorn, over 1904, bldz. 81.

kazen, deels afkomstig van de Proefzuivelboerderij, en deels de reeds te voren genoemde handwerk- en machinaal bereide kazen, uit Friesland afkomstig. De analysemonsters werden als volgt genomen.

Uit de kaas werd in den regel een middenschijf gesneden, ter dikte van 1 à $1\frac{1}{2}$ c.M. Deze ronde (Edammer) resp. langwerpige ronde (Goudsche) schijf werd in 2, 3 of 4 ringen gelegd, rondom een overblijvend centraal rond schijfje. Bij een deel der kazen werd de buitenste ring genomen ter breedte van 0,5 à 1 c.M., in een ander deel mat de buitenste ring — bevattende tevens de afgeschrapte korst — \pm 3 m.M. De breedte der overige ringen varieerde van 1 tot $1\frac{1}{2}$ c.M., terwijl het overblijvende centrale schijfje een straal had van 2 à $2\frac{1}{2}$ c.M. De ringen en het centrale schijfje werden ieder voor zich gemalen, terwijl uit de goed verdeelde maalsels de monsters werden genomen. Enkele analyseuitkomsten vindt men samengesteld in Tabel I en II.

Uit de in de Tabellen I en II vervatte cijfers blijkt:

dat de per gewichtseenheid in het randgedeelte der kaas aanwezige hoeveelheid droge stof grooter werd gevonden dan in de meer naar binnen gelegen gedeelten;

dat dit niet alleen veroorzaakt wordt door het vet, maar ook door de eiwitstoffen;

dat evenwel tusschen het vetgehalte eensdeels en het eiwitgehalte anderdeels, beide omgerekend op de (eventueel zoutvrije) droge stof, in de rand- en binnengedeelten der onderzochte kazen geen of nauwelijks verschillen bestaan;

dat derhalve de zaak daarop neerkomt, dat het randgedeelte der kaas aanmerkelijk minder vocht bevat dan de meer naar binnen gelegen gedeelten, zoodat, gezien uit een oogpunt van voedingswaarde, het randgedeelte der kaas te prefereren is en de korst allernijst te versmaden valt.

Overigens volgt uit de cijfers, dat, wat betreft het vet- en eiwitgehalte en de localisatie van vet en eiwitstoffen, tusschen de in dit opzicht onderzochte handwerk- en machinaal bereide kazen geene in het oog springende verschillen vielen te constateeren.

Kurze Zusammenfassung.

Es hat sich herausgestellt das Edamer und Goudakäse von einem Kanälensystem durchsetzt sind; dass die Kanäle bis unter bezw. in der Rinde reichen, dass sämtliche Quarkteilchen von den Kanälen umspunnen und dass zwischen den in der Käse enthaltenden „Augen“ und Öffnungen mittelst des Kanälensystems Kommunikation vorhanden ist. In den Kanälen sind Substanzen enthalten, die von Haematoxylin und von Methylenblau homogen gefärbt werden. Es

handelt sich dabei vermutlich teilweise um Kalksalze und teilweise um Eisweiskörper. In den Kanälen, und gegentlich ebenfalls in den Quarkteilchen, trifft man ausserdem gewöhnlich rundliche Körperchen an, die schon in den ungefärbten mikroskopischen Präparaten sichtbar sind, und sich uebrigens ebenfals mit Haematoxylin und Methylenblau färben lassen. In den Quarkteilchen finden sich die Fettkörperchen zum groszen Teil noch im isolierten zustand, wie sie ursprünglich in der Milch vorhanden waren, vor, während ein anderer Feil zusammengeflossen ist oder Klümpchen bildet. Was die Bedeutung der Kanäle anbelangt, wird offenbar von ihnen die Flüssigkeits- und Stoff- (eventuell auch Salz-) Wechsel in der Käse vermittelt. Bei einer vergleichenden Untersuchung zwischen Handwerk- und machinell bereitenden Käsen wurden kaum Differenzen aufgefunden, weder was den structurellen Bau noch was die Grösze und Form der Quarkteilchen, noch was die Lokalisation von Fett und Eiweiskörper in den verschiedenen uebereinstimmenden Regionen der Käse betrifft.

TABEL I.

I = Randring (+ korst), breed ± 3 m.M.; II = Ring (volgende op I), breed 1 à 1½ c.M.; III = Centrum, straal 2 à 2½ c.M.

	Vet.			Eiwit.			Droge stof.			Zout.			Zoutvrije droge stof.			Vet in zoutvrije droge stof.			Eiwit in zoutvrije droge stof.		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
40+ kaas. H.11. Friesland. Handwerk. Ongepasteuriseerd; oud 7 weken 6 dagen	90.12	23.9	22.93	32.95	26.45	24.36	69.96	58.28	54.82	2.62	3.29	3.09	67.34	54.99	51.77	44.72	43.45	43.12	48.94	48.11	47.05
40+ kaas. M.11. Friesland. Machine Dros. Ongepasteuriseerd; oud 8 weken 6 dagen	32.08	25.54	23.12	34.88	28.68	24.98	74.56	61.89	56.17	2.17	3.16	3.04	72.39	58.23	53.13	44.31	43.86	43.51	48.18	49.25	47.09
20+ kaas. H.32. Friesland. Handwerk. Gepasteuriseerd; oud 6 weken 3 dagen	13.33	11.95	10.23	36.47	26.80	29.47	60.77	49.74	46.08	2.44	3.10	2.62	58.33	46.64	45.47	23.88	25.62	22.70	65.95	67.60	64.81
20+ kaas. M.32. Friesland. Machine. Volta. Gepasteuriseerd; oud 6 weken 5 dagen	13.19	10.08	9.59	33.17	23.96	28.08	60.97	47.37	46.40	2.80	3.41	3.11	58.17	43.96	43.29	22.68	22.94	22.16	63.61	68.19	64.85
20+ kaas. H.20. Friesland. Handwerk. Gepasteuriseerd; oud 9 weken 6 dagen	14.74	10.74	9.62	39.31	29.82	26.56	62.81	46.2	45.4	3.14	3.30	4.11	59.57	42.30	41.30	24.87	25.39	23.29	65.87	70.40	64.28
20+ kaas. M.20. Friesland. Machine v. d. Goot. Gepasteuriseerd; oud 11 weken	14.08	10.37	9.48	38.21	30.15	26.89	60.94	49.89	45.35	3.45	4.14	4.28	57.49	45.25	41.07	24.50	22.91	23.09	66.46	66.93	64.99
40+ kaas. Proefzuivelboerderij Hoorn. Ongepasteuriseerd; ongezuuten; oud 20 weken	33.25	26.90	21.96	38.76	32.79	27.46	79.33	66.63	55.56	0.18	0.21	0.27	79.21	66.42	55.29	41.99	40.49	39.71	48.94	49.36	49.66
40+ kaas. Proefzuivelboerderij Hoorn. Ongepasteuriseerd; oud 4 weken 5 dagen	30.38	23.74	22.11	32.26	24.82	23.91	69.69	56.91	54.18	2.60	3.50	2.97	67.09	53.41	51.20	45.28	44.48	43.18	48.08	46.47	46.89

TABEL II.

I = Randring, breed 0.5—1 c.M.; II = Ring (volgende op I), breed 1 c.M.; III = Ring (volgende op II), breed 1 à 1½ c.M.; IV = Centrum, straal 2 à 2½ c.M.

	Vet.				Elwit.				Droge stof.				Vet in droge stof.				Elwit in droge stof.			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
	40 + kaas. H. 3. Friesland. Handwerk. Ongepasteu- riseerd; oud 5 weken	27.15	23.40	23.30	23.86	28.13	—	24.35	—	62.33	—	55.92	—	43.36	—	42.19	—	45.13	—	43.54
40 + kaas. M. 1. Friesland. Machine v. d. Goot. Op- gepasteuriseerd; oud 6 weken	25.71	—	22.38	—	28.12	—	23.95	—	61.41	—	54.29	—	41.86	—	41.21	—	45.79	—	44.11	—
30 + kaas. („Fransche”, Gouda). H. 3. Friesland. Handwerk. Ongepasteu- riseerd; oud 5 weken	23.06	16.61	—	14.46	36.23	27.01	—	24.49	68.29	52.08	—	45.31	83.77	81.89	—	81.90	53.05	51.86	—	54.06
30 + kaas. („Fransche”, Gouda). M. 3. Friesland. Machine Lanfers. Ge- pasteuriseerd; oud 6 weken	23.07	15.80	—	14.02	36.63	26.28	—	23.81	67.41	49.38	—	45.64	84.22	32.00	—	90.74	54.38	53.32	—	52.17
20 + kaas. Proefzuivel- boerderij. Oud 4 weken	14.39	12.66	—	11.37	36.70	30.45	—	27.15	63.15	53.77	—	47.19	23.58	23.55	—	24.09	58.12	56.03	—	57.42
20 + kaas. Proefzuivel- boerderij. Ongezuuten; oud 17 weken	20.46	15.35	—	11.65	50.50	39.27	—	31.37	80.07	62.53	—	50.80	25.56	24.54	—	22.94	63.07	62.80	—	61.74
40 + kaas. Proefzuivel- boerderij. Oud 9 weken	25.21	23.05	—	22.17	29.46	25.97	—	24.95	62.45	56.99	—	55.35	40.37	40.45	—	40.05	47.13	45.40	—	45.08

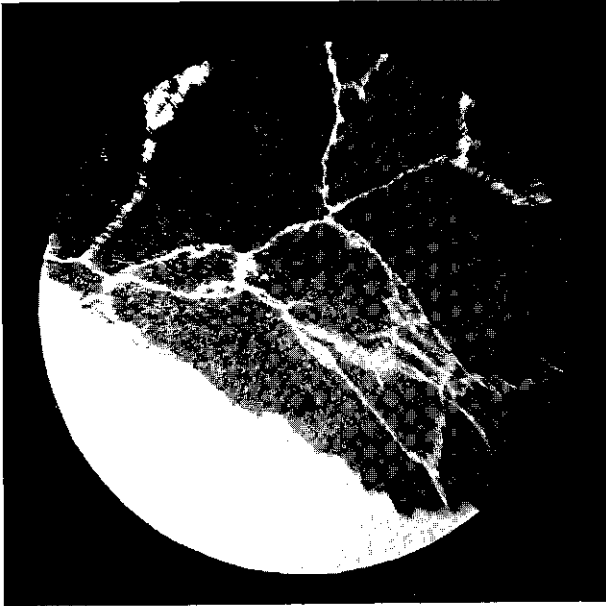


Fig. I. Coupe uit het randgedeelte van een 40+ kaas,
oud 20 weken.
Vergrooiting: $\pm 40\times$.

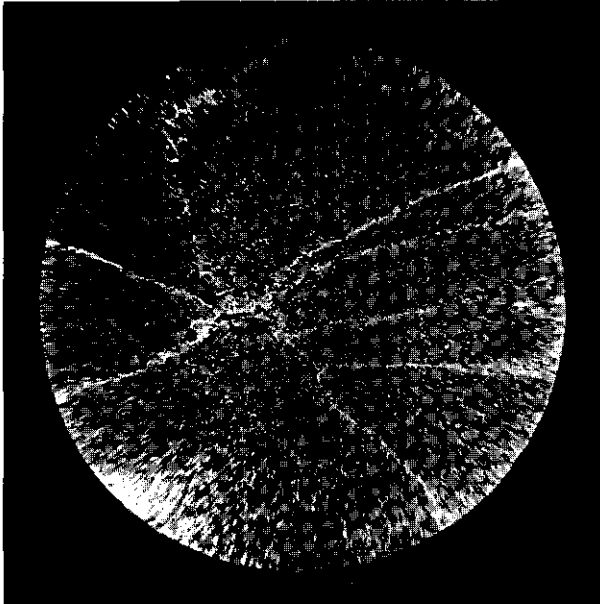


Fig. II. Coupe uit het randgedeelte van een 20+ kaas,
oud 12 weken.
Vergrooiting: $100\times$.

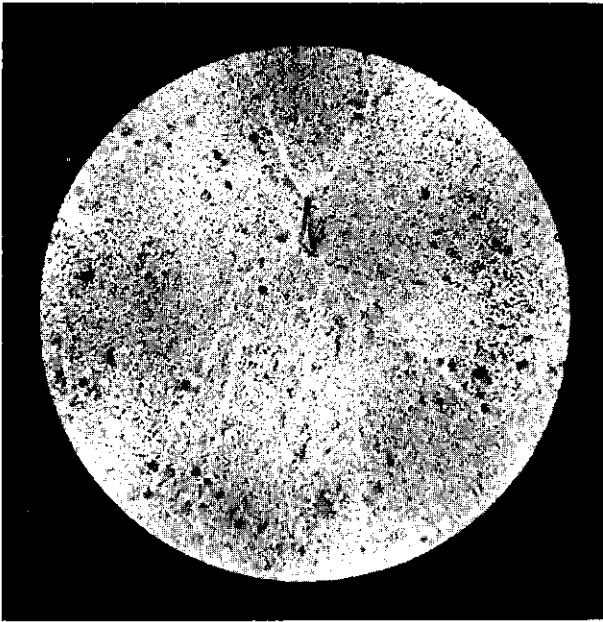


Fig. III. Zelfde coupe als figuur II, echter lichter afgedrukt, om de talrijke aanwezige ronde vormsels (zie tekst) zichtbaar te maken.
Vergrooing: 100 X.

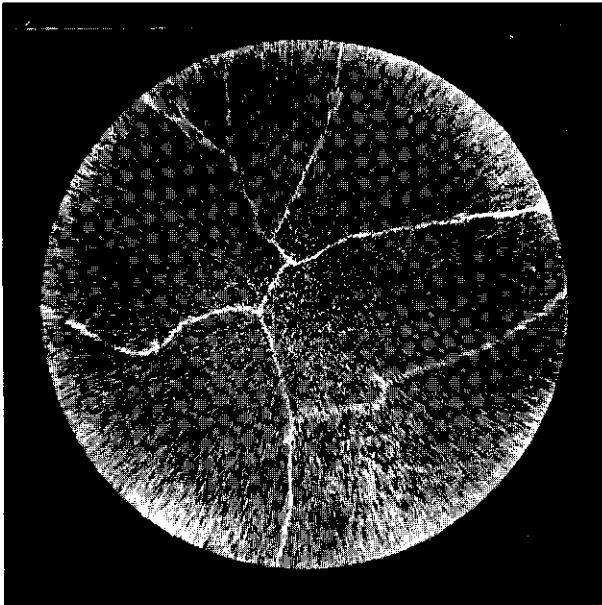


Fig. IV. Coupe uit middengedeelte van een 20r kaas, oud 12 weken.
Vergrooing: 40 X.

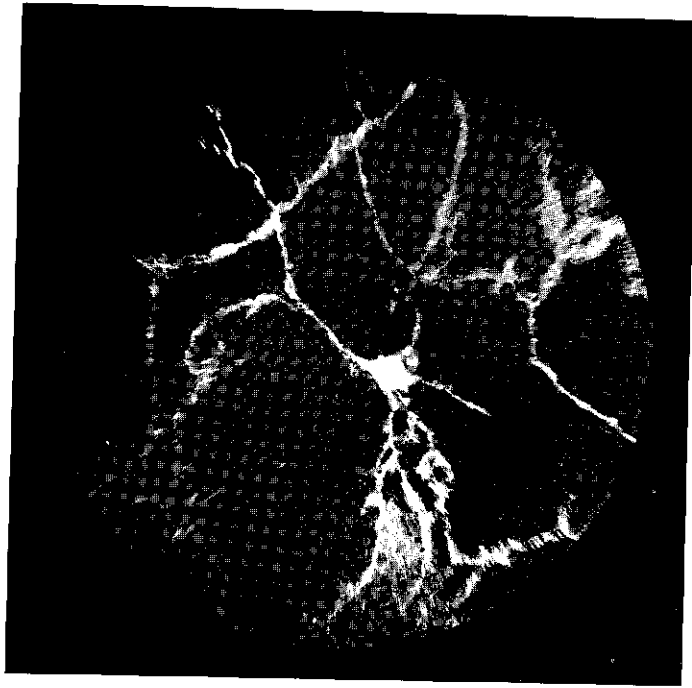


FIG. V. Coupe uit het middengedeelte van een 40+ kams,
oud 20 weken.
Vergrooting: $\pm 40\times$.