

# RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

## Over melkschuimvliesjes en de aan hunne vorming ten grondslag liggende substantie

DOOR

E. HEKMA en E. BROUWER.

(Ingezonden 29 November 1922).

### I.

#### Over schuimvliesjes in het sediment van volle melk en van centrifugemelk.

Bij het microscopisch onderzoek van melksedimenten werden wij herhaaldelijk getroffen door de aanwezigheid van vormsels, waarvan de aard niet duidelijk was, en waaromtrent in de literatuur weinig gegevens werden aangetroffen. Aangezien bedoelde vormsels gemakkelijk tot dwalingen aanleiding bleken te kunnen geven bij het onderzoek van melk op het voorkomen en het aantal van natuurlijke gevormde elementen, werd besloten, omtrent den aard dezer vormsels een nader onderzoek in te stellen.

Wanneer men melk in conisch toeloopende buizen, b.v. die van TROMMSDORFF, centrifugeert, dan verzamelt zich in het nauwere capillaire gedeelte een sediment, dat gemakkelijk met behulp van een dun glazen buisje kan worden opgezogen om microscopisch te worden onderzocht. In een aldus verkregen sediment van volle melk, afkomstig van de Proefzuivelboerderij, werden, behalve andere elementen (vooral witte bloedcellen en epitheelcellen), bedoelde eigenaardige vormsels aangetroffen. Vooral ook in de ondermelk, verkregen door de volle melk na verwarmen op circa 40° te centrifugeeren in een handcentrifuge (Alfa—Laval—Colibri), kwamen deze lichaampjes veelvuldig voor. Hier was het niet noodig te sedimenteeren. De ondermelk als zoodanig bleek zóóveel van deze elementen te bevatten, dat eenvoudig microscopisch onderzoek talrijke onder het oog deed komen.

De bewuste lichaampjes hadden een cirkelvormige of klokvormige gedaante en vertoonden duidelijk een dubbelen omtrek, zoodat ze zeer veel geleken op *roode bloedcellen*, zooals die in pathologische urine herhaaldelijk worden aangetroffen. Daarnaast

2082390



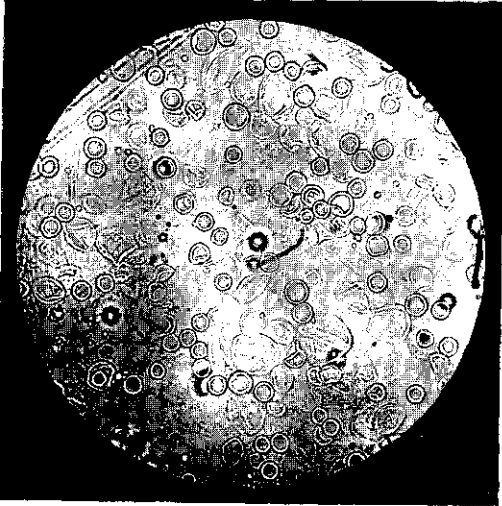


Fig. 1.

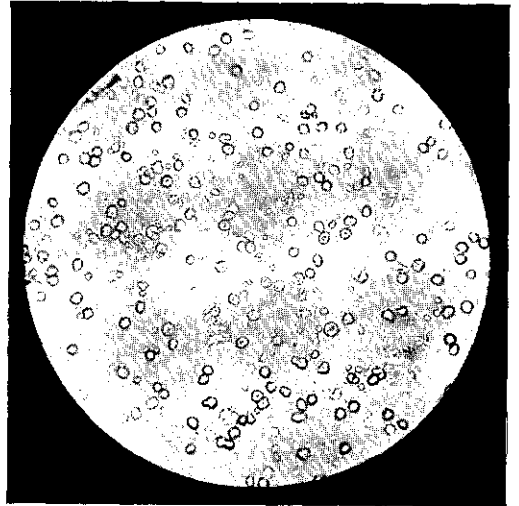


Fig. 2.

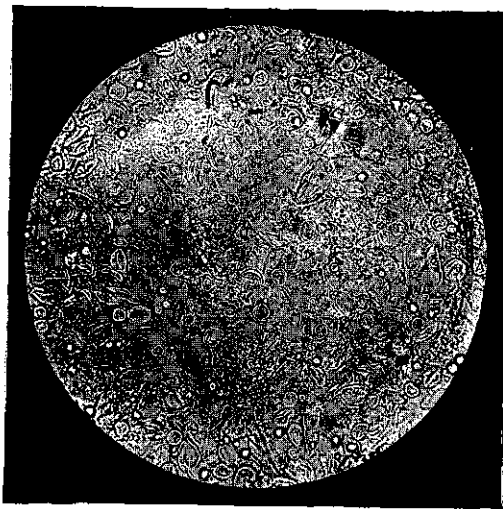


Fig. 3.

roode bloedcellen van mensch en rund in koemelk gebracht. Noch bij kamertemperatuur, noch bij 37° trad haemolyse op; evenmin zagen wij vormsels, die met de hierboven beschreven lichaampjes duidelijke overeenkomst vertoonden. *Hiermede moest de bovengenoemde hypothese vervallen*, zoodat we naar de beteekenis van deze vormsels bleven zoeken.

Ondertusschen was het evenwel gebleken, dat in het sediment van de *volle* melk der afzonderlijke koeien de vormsels wel bijna constant voorkwamen, maar slechts zelden in grootere hoeveelheden. Bovendien behoorden ze meestal tot de grootere, onregelmatige vormen (gemiddeld 20 à 50 micron) met dunnen wand. De kleinere, ronde of klokvormige lichaampjes met dikkeren wand waren in het sediment der ongecentrifugeerde melk uitzondering. De blaasvorm was aan de grootere moeilijk te herkennen; we hebben daarom zoowel grootere als kleinere voorloopig „vliesjes” genoemd in navolging van WINKLER (waarover later), die ze „Häute” of „Bälge” noemde. Uitteraard bracht ons het opgemerkte verschil tot het vermoeden, dat het *centrifugeeren* van invloed zou zijn. We onderzochten daarom de ongecentrifugeerde melk en dezelfde melk, nadat ze in den separator was ontroomd. Het resultaat was verrassend:

*Mengmelk*: Hoogte van het sediment (TROMMSDORFF): 0,35 deelstreep; bij microscopisch onderzoek: matig veel vliesjes.

*Dezelfde melk na centrifugeeren*: Hoogte van het sediment (TROMMSDORFF): véél meer dan 2,0! deelstreep; bij microscopisch onderzoek: stampvol vliesjes.

Bij deze en volgende proeven werden de buisjes van TROMMSDORFF vijf minuten gecentrifugeerd met een handcentrifuge (2200 toeren per minuut).

Niettegenstaande het feit, dat véél gesuspendeerde deeltjes uit de volle melk in het centrifugeslib van den separator achterblijven, was de hoogte van het sediment uit de centrifugemelk véél grooter dan van dat uit de volle melk. Het verschil was zóó duidelijk, dat geen twijfel mogelijk was, of *het aantal der aldus uit de centrifugemelk verkregen vliesjes was véél grooter dan dat uit de volle melk*.

Wij hebben deze proef meermalen herhaald met mengmelk en met melk van afzonderlijke koeien; steeds met hetzelfde resultaat. Hieruit bleek dus, dat niet alleen uit de mengmelk, maar ook *uit de melk van elk der onderzochte koeien na centrifugeeren in den separator véél meer vliesjes verkrijgbaar waren dan daarvoor*, zij het dan ook, dat de toename lang niet altijd even groot was:

Koe N <sup>o</sup> . 4:	A. volle melk (10 c.c.).	TROMMSDORFF:	0,35;	microsc.:	cellen; enkele vliesjes.
	B. gecentrif. (10 c.c.).	„	> 2,0;	„	bijna uitsluitend „
Koe N <sup>o</sup> . 12:	A. volle melk (10 c.c.).	„	0,2;	„	cellen; vrij veel „
	B. gecentrif. (10 c.c.).	„	> 2,0;	„	bijna uitsluitend „
Koe N <sup>o</sup> . 10:	A. volle melk ( 5 c.c.).	„	1,6;	„	cellen en vrij veel „
	B. gecentrif. ( 5 c.c.).	„	> 2,0;	„	veel vliezen; tamelijk veel cellen.

Koe N <sup>o</sup> . 30: A. volle melk (5 c.c.).	TROMMSDORFF: 0,25;	microsc.: cellen en vrij veel vliesjes.
B. gecentrif. (5 c.c.).	" > 2,0 ;	" bijna uitsluitend "
Koe N <sup>o</sup> . 5: A. volle melk (5 c.c.).	" 0,15;	" cellen; zeer enkele "
B. gecentrif. (5 c.c.).	" 1,1 ;	" talloze vliesjes; weinig leucocyten.
Koe N <sup>o</sup> . 6: A. volle melk (5 c.c.).	" 0,25;	" veel cellen; enkele vliesjes.
B. gecentrif. (5 c.c.).	" ± 1,1 ;	" stampvol vliesjes.

Een tweede vraag, die opgelost moest worden, was: „Ontstaan de vliesjes door het centrifugeeren in den separator, of zijn ze ook al in zoo groot aantal in de volle melk aanwezig?” Het lijkt immers niet onwaarschijnlijk, dat uit de centrifugemelk met behulp van TROMMSDORFF's methode gemakkelijker een sediment kan worden afgescheiden dan uit volle melk, door de talrijke vetbolletjes in de laatste aanwezig. Toch bleek het, dat ze door het centrifugeeren in grooten getale ontstaan.

Waren de vliesjes in de volle melk aanwezig geweest, dan zou langeren tijd sedimenteeren van volle melk de hoogte van het sediment moeten doen toenemen, totdat het minstens even hoog of zelfs hoger wordt dan dat uit de centrifugemelk. Het bleek evenwel heel spoedig, dat dit slechts in zeer beperkte mate het geval was.

Ook microscopisch onderzoek van de niet volgens TROMMSDORFF behandelde volle melk wees in dezelfde richting. Hierin zagen we hoogst zelden een vliesje, terwijl in één enkel preparaat van de onbehandelde centrifugemelk talloze exemplaren voorhanden waren.

Beslissend was de volgende proef: 1 c.c. centrifugemelk werd in een buisje van TROMMSDORFF gedurende vijf minuten gecentrifugeerd. De hoogte van het sediment bedroeg 0,65 deelstreep en het bestond bijna uitsluitend uit vliesjes. Nu werd de bovenstaande vloeistof weggegoten; het sediment bleef dus in het capillaire gedeelte van het buisje achter. Hierop werd 5 c.c. volle melk gegoten en het sediment daar grondig doorheen geroerd. Nu werd wéér gesedimenteerd. De hoogte bedroeg 0,75 deelstreep en het sediment bestond uit cellen (afkomstig uit de volle melk) en massa's vliesjes. Uit een contrôleproef was gebleken, dat 5 c.c. van de gebruikte volle melk een sediment van 0,2 deelstreep hoog gaf, dat hoofdzakelijk uit cellen bestond en waarin slechts zeer enkele vliesjes te vinden waren. Ook uit de volle melk laten de vliesjes zich dus voor een zeer groot gedeelte door centrifugeeren met een laboratorium-centrifuge verwijderen. *Zoo was duidelijk geworden, dat het meerendeel van de vliesjes in de centrifugemelk ontstaat door het centrifugeeren.*

Het spreekt van zelf, dat nu de vraag opkwam, of eenig gevormd element in de volle melk deze producten leverde. Allereerst hebben we gedacht, dat gedurende het centrifugeeren de membraantjes, die de vetbolletjes in de melk zouden omhullen, zouden loslaten van hun inhoud, waardoor de genoemde vormsels konden ontstaan; maar waarschijnlijk was dat niet, omdat dan

veel kleiner vliesjes het resultaat moesten zijn. Onderzochten we dan ook het centrifugeslib, dat bij het herhaaldelijk wasschen van room met water ontstaat, dan vonden we slechts den eersten keer een gering aantal vliesjes; later niet meer.

Een tweede mogelijkheid was, dat de cellen uit de melk (leucocyten, uiercellen) gedurende het centrifugeeren door mechanische beleediging hun inhoud zouden verliezen en dat de overblijvende schimmen als vliesjes zouden kunnen imponeeren. Door behandeling van leucocyten met een bepaalde fluornatriumoplossing kan men iets dergelijks te zien krijgen. Maar ook hier sprongen direct feiten in het oog, die aldus niet konden worden verklaard. Immers, de meeste vliesjes waren veel grooter dan de cellen, waaruit ze zouden ontstaan en hun aantal was eveneens veel grooter dan dat van de cellen in de volle melk.

Al spoedig kwamen we op een derde gedachte. Bij het microscopisch onderzoek toch van de versche centrifugemelk, vonden we herhaaldelijk zeer kleine gasbelletjes (bij oppervlakkig onderzoek kan men ze voor vetbolletjes houden), waarvan de grootte zeer goed overeenkwam met die van de vliesjes. We stelden ons den gang van zaken aldus voor: Bepaalde, in sole-vorm aanwezige, colloïdale bestanddeelen uit de melk hoopen zich op in het grensvlak: melk-gas, dus rondom de gasbelletjes. Hier zouden ze in gel-vorm, dus in vasten toestand overgaan. Deze gasbelletjes, die bij het centrifugeeren in grooten getale ontstaan, zouden dan door een vast vliesje omgeven zijn.

Laat men de melk staan, dan bersten (althans voor een deel) de gasbelletjes, zooals men gemakkelijk kan hooren, wanneer men zijn oor boven een vat met centrifugemelk houdt, waarop nog schuim drijft. De hulsels zouden dan zonder gasvormigen inhoud in de melk blijven zweven<sup>1)</sup>. Het proces moet dus in hooge mate irreversibel zijn, omdat ook na 24 uur staan de ondermelk nog talrijke vliesjes bevatte.

Al scheen deze laatste mogelijkheid de *waarschijnlijkste* van de drie, toch waren er argumenten, die er tegen pleitten<sup>2)</sup>. Slechts door voortgezette proefnemingen kon uitgemaakt worden, of één van deze drie verklaringen de juiste was.

Het onderzoek van het centrifugeslib bracht ons verder. Het bestaat hoofdzakelijk uit cellen en kleine korrels (fig. 2); slechts weinig vliesjes vindt men er in.

Gaat de gecentrifugeerde melk evenwel een tweede maal door den separator, dan bestaat het slib hoofdzakelijk uit vliesjes (fig. 3), waartusschen zich nog enkele cellen bevinden, afgezien van de korrels. Hieruit kon *met zekerheid worden geconcludeerd, dat de vliesjes in hoofdzaak pas ontstaan, nadat de ondermelk de*

<sup>1)</sup> Zooals verderop zal blijken, is deze voorstelling wel in hoofdzaak, maar niet geheel en al juist.

<sup>2)</sup> Deze hebben, zooals blijken zal, een bevredigende verklaring gevonden.

*draaiende centrifugetrommel heeft verlaten; want ook de melkrest, die in deze trommel na afloop van het proces achterbleef, bevatte ze nagenoeg niet. Wanneer de ontroomde melk de bewuste trommel verlaat, dan wordt ze met kracht gestingerd in den schotel, die dient voor het opvangen en afvoeren van de centrifugemelk en pas hier wordt, zooals bij nader onderzoek bleek, het schuim gevormd.* Dit alles klopte dus volkomen met de schuimhypothese.

Een volgende proef bracht ons weer een stap verder. Een gedeelte van de afgeroomde melk werd, zoodra ze uit de centrifuge kwam, opgevangen in een scheitrechter. Na even te hebben gewacht, zoodat de grootste gasbellen zich in een dikke laag op de vloeistof hadden verzameld en er dus een grens tusschen vloeistof en schuim te zien was, lieten wij de onderstaande vloeistof grootendeels afloopen. Ook hierop verzamelde zich nog een hoeveelheid schuim, hetwelk meerendeels uit kleinere bellen bestond. We lieten beide porties eenigen tijd staan, zoodat het schuim verdween en telden daarna met behulp van een bloedtelapparaat van BÜRKER het aantal vliesjes. *In de eerste portie (hoofdzakelijk schuim) was het aantal 4 700 000 per c.M<sup>3</sup>.; in de tweede portie (weinig schuim) 1 300 000.*

Nog duidelijker bleek het nauwe verband met het optreden van schuim, toen we verdere proeven namen. Zooals reeds werd opgemerkt, blijft steeds een melkrest in de draaiende centrifugetrommel achter, waarin slechts zeer enkele vliesjes voorkomen. Was deze ondermelk naar buiten getreden, dan zou daarin schuimvorming hebben plaats gehad met vliezenvorming als gevolg. Wij hebben getracht, deze schuimvorming op andere wijze te bewerkstelligen.

Na het blijven stilstaan van de trommel werd een gedeelte van den inhoud uitgegoten in een fleschje, verwarmd tot 43° en enkele minuten hevig geschud. Daarop bepaalden we het aantal vliesjes, dat ook vóór het schudden was geteld.

Het bedroeg: A. voor het schudden: ± 10 per m.M<sup>3</sup>.  
B. na het schudden: 270 „ „

Wanneer bovenbedoelde ondermelkrest in een gewone laboratoriumcentrifuge werd gecentrifugeerd, was het aantal vliesjes nog veel kleiner. Bij doorzoeken van ruim ½ m.M<sup>3</sup>. werd slechts één gevonden. Na verwarmen op 41° en schudden bedroeg het aantal 220 per m.M<sup>3</sup>., wanneer direct werd onderzocht. Lieten we de melk nu nog 15 minuten staan, zoodat het schuim gedeeltelijk verdween, dan was het aantal 340 per m.M<sup>3</sup>.; dus aanmerkelijk grooter. Deze proef werd een volgenden dag herhaald; thans was het resultaat: voor het schudden geen vliesjes, na het schudden 170 per m.M<sup>3</sup>. *Door het schudden was dus het aantal sterk toegenomen.*

De volgende stap was nu, niet alleen de schuimvorming, maar ook het centrifugeeren buiten den separator om te doen plaats vinden: Mengmelk werd in een laboratoriumcentrifuge gedurende 20 minuten gecentrifugeerd ( $\pm 3000$  toeren per min.). Daarna werd de punt van een zeer dun uitgetrokken glazen buis door de roomlaag gestoken, waarna het gemakkelijk gelukte, een hoeveelheid ondermelk af te zuigen. Deze werd weer verwarmd en geschud. Daarna telden wij het aantal vliesjes; bovendien het aantal cellen om definitief aan te toonen, dat de vliesjes niet daaruit ontstaan. (In de melkrest uit den separator kwamen cellen in groot aantal voor; daarnaast vrij veel vetbolletjes). Het resultaat was het volgende: (het volumen, waarop de getallen betrekking hebben komt overeen met den inhoud van twee telkamers, dus met 1,15 m.M<sup>3</sup>).

A. voor schudden: cellen 29; vliesjes geene.  
 B. na " " 20<sup>1)</sup>; " 202.

Natuurlijk werd ook deze proef herhaald; steeds met hetzelfde resultaat, b.v.:

A. voor schudden: cellen 33; geen vliesjes.  
 B. na " " 39; 112 "

Het volumen was hier 0,58 m.M<sup>3</sup>. Voor het bepalen van het aantal cellen werd bij deze proef een drievoudig volumen „afgeteld” en het verkregen cijfer door drie gedeeld; aldus vermindert men de proeffout; de overeenstemming is dan ook beter.

*Ook door schudden van melk, die in een laboratoriumcentrifuge was gecentrifugeerd, ontstonden dus vliesjes en wel in veel grooter aantal, dan er cellen vóór schudden in de melk aanwezig waren. Ze konden dus moeilijk direct uit cellen ontstaan.*

Nog overtuigender, wat betreft het al of niet ontstaan der vliesjes uit cellen of vetbolletjes, waren de proeven met ondermelk, die gefiltreerd was door kaarsen van BERKEFELD. Door centrifugeeren in een laboratoriumcentrifuge gelukt het namelijk niet, de melk vrij van cellen en vetbolletjes te krijgen; wèl met behulp van BERKEFELD-kaarsen. Een bezwaar was evenwel, dat het filtraat der BERKEFELD-kaarsen dikwijls schuim bevatte; dan werden tevens vliesjes gevonden. Een enkele maal was het filtraat echter schuimvrij en bij latere proeven hebben we het steeds schuimvrij kunnen verkrijgen door de filtratie niet door zoogenaamden negatieven druk, maar door een positieven druk van  $\pm 50$  c.M. water te doen plaats vinden, wat werd verkregen, door de laag vloeistof boven de kaars zóó hoog te nemen. Het verkregen filtraat werd verwarmd tot 35 à 40° en daarna gedurende een halve of een geheele minuut flink geschud. De verkregen cijfers waren de volgende:

<sup>1)</sup> Het verschil (9) ligt bij een zoo gering aantal binnen de proeffouten.



N <sup>o</sup> . 1.	vóór schudden: geen vliesjes; na schudden (39°):	56	per telkamer (0,58 m M <sup>3</sup> .)
N <sup>o</sup> . 2.	„ „ 3 „ 1); „ „ (35°):	158	„ „ „
N <sup>o</sup> . 3.	„ „ geen „ ; „ „ (35°):	80	„ „ „
N <sup>o</sup> . 4.	„ „ geen „ ; „ „ (37°):	46	„ „ „

Bij deze proeven *ontstond dus een groot aantal vliesjes bij afwezigheid van cellen en vetbolletjes*. Hiermede was het ontstaan van de vliesjes uit het gevormde schuim zoo goed als bewezen. Men zal zien, dat we nog later zelfs absolute zekerheid hebben kunnen verkrijgen.

Zooals reeds eerder werd opgemerkt, bevatte het sediment van de melk van nagenoeg alle koeien der Proefzuivelboerderij een gering aantal vliesjes; slechts enkele malen vonden wij een grooter aantal. Wij vroegen ons af, of ook deze in schuimvorming hun oorsprong zouden kunnen vinden, waarbij gedacht werd aan het schuim, dat gedurende het melken in den emmer ontstaat. Wanneer we echter volle melk verwarmden en daarna schudden, dan was het aantal vliesjes niet grooter dan te voren. We hebben ons daarover niet al te zeer verwonderd, want het is zeer goed mogelijk, dat wèl nieuwe vliesjes werden gevormd, maar dat een even groot aantal door het schudden weer uiteengeslagen werd, zoodat bij telling geen vermeerdering werd gevonden. Een juiste beoordeeling was op deze manier dus niet mogelijk. Daarom hebben we een andere methode toegepast, waarbij de volgende redeneering werd gevolgd: Ontstaan de vliesjes inderdaad bij het schuimen, dan moeten ze niet gevonden worden in melk, die zóó is gemolken, dat geen schuimvorming optreedt. Wij meenden dit te bereiken, door de tepelopening tegen een glazen trechttertje te houden, dat op een fleschje stond en dan de melk voorzichtig uit te drukken. Inderdaad werd zóó de schuimvorming sterk beperkt; maar ze was toch niet geheel afwezig. De verkregen melk werd ten hoogste enkele uren daarna tot ongeveer 40° verhit en geschud. Dan goten we 10 c.c. in een buisje van TROMMSDORFF en dit werd gedurende 5 minuten in een handcentrifuge gecentrifugeerd (2200 toeren per minuut). Hierop werd de bovenstaande vloeistof weggeworpen en het sediment gesuspenseerd in 0,5 c.c. NaCl 0,9 pct., waarna het aantal vliesjes in de verkregen suspensie werd geteld. Wij waren ons hierbij bewust van de fouten, die aan TROMMSDORFF's methode kleven; maar meenden haar toch te mogen toepassen, omdat het hier slechts noodig was een vergelijkend onderzoek te verrichten met melk, die wèl, en met dezelfde melk, die niet geschud was.

Koe N <sup>o</sup> . 15.	A. ongeschud:	TROMMSDORFF 0,2 ; geen vliesjes in 0,58 m M <sup>3</sup> .
	B. 42° geschud:	„ 0,75; 35 „ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 29.	A. ongeschud:	„ 0,2 ; geen „ „ „ „
	B. 40° geschud:	„ 0,45; 80 „ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 32.	A. ongeschud:	„ 0,3 ; geen „ „ „ „
	B. —, geschud:	„ > 2,0 ; 66 „ „ „ „

1) Hier had het filtraat iets geschuimd.

Koe N <sup>o</sup> . 31. A. ongeschud:	TROMMSDORFF	0,2	6 vliesjes in 0,58 m M <sup>3</sup>
B. —, geschud:	„	—	71 „ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 27. A. ongeschud:	„	0,3 ; geen	„ „ „ „
B. 38 <sup>o</sup> , geschud:	„	1,0 ; 102	„ „ „ „

Gelijk men ziet, bevatte de melk *na schudden steeds een groot aantal vliesjes*; daarvóór geene, behalve in één geval een zeer gering aantal, dat aan bijna niet te vermijden schuimvorming zal moeten worden toegeschreven. Ten overvloede hebben we nog een paar proeven genomen met melk, die werd verkregen door aftappen met behulp van melkbuisjes. Op die manier kon steeds een vloeistof worden opgevangen, die in het geheel geen schuim bevatte. De resultaten waren de volgende:

Koe N <sup>o</sup> . 15. A. ongeschud:	TROMMSDORFF	—	; geen vliesjes in 0,58 m.M <sup>3</sup> .
B. 35 <sup>o</sup> , geschud:	„	—	66 „ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 5 A. ongeschud:	„	0,25 ; geen	„ „ „ „
B. 35 <sup>o</sup> geschud:	„	0,4 ; 4	„ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 16. A. ongeschud:	„	0,1 ; geen	„ „ „ „
B. 35 <sup>o</sup> , geschud:	„	0,25 ; 19	„ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 18. A. ongeschud:	„	0,2 ; geen	„ „ „ „
B. 37 <sup>o</sup> , geschud:	„	1,0 ! ; 780!	„ „ „ „
Koe N <sup>o</sup> . 28. A. ongeschud:	„	0,25 ; geen	„ „ „ „
B. 37 <sup>o</sup> , geschud:	„	0,3 ; 28	„ „ „ „

Na deze proeven werd het dus duidelijk, *dat ook de vliesjes in de volle melk ontstaan uit schuim, dat in dit geval gedurende het melken ontstaat.*

Behalve vliesjes werden na het schudden ook korrelmassa's gevonden; bovendien ook exemplaren, die dicht met korrels waren bezet. Bij het tellen werden echter alleen diè lichaampjes meegerekend, waarbij geen twijfel omtrent de geaardheid mogelijk was. Verder moeten wij opmerken, *dat de uitkomst van TROMMSDORFF's proef bijna steeds hooger, soms zelfs vele malen hooger uitviel bij geschudde melk, dan bij dezelfde melk, wanneer ze niet was geschud.*

Enkele bladzijden hiervóór werd opgemerkt, dat tenslotte het absolute bewijs is geleverd, dat de vliesjes uit gasbelletjes ontstaan. Dit werd bereikt door microscopisch onderzoek. Wij hebben het eerst op verschillende manieren beproefd, die we stilzwijgend zullen voorbijgaan, want de oplossing bleek ten slotte veel gemakkelijker te vinden, dan wij ons hadden voorgesteld. Wanneer we n.l. de ondermelk, zoodra deze uit de centrifuge kwam, onderzochten, dan bevatte deze tal van grootere en kleinere gasbelletjes. (De kleinste verwarre men niet met vetdruppels). Wij hadden nu niets anders te doen dan een veld op te zoeken, waarin een aantal kleine gasbelletjes lagen, en dan verder af te wachten. Op een gegeven oogenblik zagen we één der kleinste blaasjes iets bewegen, aan den rand vertoonde zich een klein knopje, het belletje werd nu zichtbaar kleiner; dit kleiner worden ging steeds sneller en enkele seconden na het begin was het geheel verdwenen, opgelost in de omgevende vloeistof (soms bleef een sterk

lichtbrekend korreltje achter). Ondertusschen was het knopje, dat aan den rand verscheen, grooter en grooter geworden en na het verdwijnen van het gas bleef een typisch vliesje achter, dat nu eens een bolvorm, dan weer een klokvorm of een onregelmatigen omtrek had. Het is wel zeker, dat een zeer groot deel van de vliesjes uit de ondermelk aldus worden gevormd, want wanneer wij de centrifugemelk direct onderzochten, dan bleek het, dat de vloeistof veel gasbelletjes en weinig vliesjes bevatte; lieten we het praeparaat liggen, dan nam het aantal vliesjes sterk toe, dat der gasbelletjes voortdurend af. Dat daarnaast vliesjes ontstaan door het bersten der grootere blazen lijkt wel waarschijnlijk; dat de kleine gasbelletjes bersten, schijnt minder voor de hand liggend. Het verdwijnen der belletjes door oplossen van het gas met achterlating van een vliesje kon ook worden waargenomen door bekijken van het schuim zonder dekglas. Hetzelfde was het geval bij praeparaten, waar de vloeistof tusschen dek- en voorwerpglas was afgesloten van de lucht door paraffine. Draaiden we het microscop nu  $90^\circ$ , zoodat het horizontaal kwam te staan, dan zagen we de gasbelletjes in het verticaal staande praeparaat naar boven stijgen. Zoo ontstonden verhoudingen, die meer met de gewone overeen kwamen. Ook hier was het oplossen der belletjes met achterlating van een vliesje uitstekend te volgen.

*Duidelijk was dus aangetoond, dat de vliesjes uit gasbelletjes ontstaan; we hebben ze daarom schuimvliesjes genoemd.* Bovendien bleek, dat een groot aantal van de kleinste gasbelletjes niet verdwijnt doordat ze bersten of samenvloeien tot grootere, maar omdat het gas oplost in de omgevende vloeistof. Dit verklaart een paar verschijnselen, die voordien minder begrijpelijk waren:

1. Zoolang wij nog meenden, dat het gas de vliesjes verlaat doordat ze bersten, scheen het vreemd, dat in den zoo duidelijk zichtbaren wand der kleinste schuimvliesjes geen spleet was te zien. Thans is het duidelijk, dat geen spleet behoef te ontstaan.

2. Bij het bersten van een belletje verwacht men, dat de omgevende vloeistof, die zoo duidelijk oplicht in het donkere veld, in het vliesje zal dringen. De inhoud was echter dikwijls optisch ledig. Ook dit is thans begrijpelijk geworden.

Zooals in den aanhef werd gezegd, is tot nu toe aan de schuimvliesjes weinig aandacht geschonken; we vonden ze slechts bij twee schrijvers vermeld. De eerste is WINKLER <sup>1)</sup> (1908). Hij zag in de melk groote, bleeke membranen, die „Unter Umständen bis auf eine Lücke geschlossene Bälge vorstellen”. Ze waren 50 à 100 micron groot <sup>2)</sup> en traden in vele melkmonsters in bui-

<sup>1)</sup> WINKLER, Zeitschr. f. d. Landw. Versuchsw. in Oesterreich, Jahrg. XI, 1908, S. 621.

<sup>2)</sup> De grootte komt niet met het gemiddelde der door ons waargenomen vliesjes overeen. Vliezen van 50 à 100 micron werden weliswaar dikwijls gezien, maar veel grooter was het aantal, dat kleiner dan 50 micron was. Mogelijk heeft hij geen verband tusschen grootere en kleinere vormen gezocht.

tengewoon groote hoeveelheid op. „Ich erhielt einmal eine Kanne *Magermilch*, die als fadenziehend bezeichnet war. Dieselbe enthielt diese zarten Häute in so groszer Menge, dasz auf jedes Gesichtsfeld von 200 Micron Durchmesser 1 bis 2 Häute entfielen". Ook zonder dat de magere melk dradentrekkend was, zou hij zeker een groot aantal hebben gevonden. Verder vond WINKLER ze in het centrifugeslib. Wat hun wezen betreft, daarover werden slechts vermoedens geuit: „Ueber den Herkunft dieser Häute bin ich mir nicht klar geworden. Die grösseren Bälge müssen offenbar Alveolen ganz ausfüllen und sind eventuell Häute von kleinen Lymphknoten. Die kleineren dürften Membranen von hypertrophischen Zellen, Zellknospen und verfettete Zellen sein." Verder meende hij, dat een groote hoeveelheid in elk geval geen geheel normalen toestand van de melkklier aanduidt.

Hij heeft de vormsels *Bälge* of *Häute* genoemd. Deze naam was juist, omdat men de beteekenis van deze lichaampjes niet kende. Nu dit na ons onderzoek wèl het geval is, hebben wij ons veroorloofd, den iets afwijkenden, kenmerkenden naam: schuimvliesjes te geven.

Een andere schrijver, die de vliesjes beschrijft, is ERNST <sup>1)</sup>. De figuur, die ERNST geeft op blz. 28, laat zeer duidelijk uitkomen, dat hij schuimvliesjes op het oog heeft. Hij vond ze in de melk van volkomen gezonde dieren en houdt ze voor „einzelnø oder in Gruppen verbundene abschilfernde Zellen des Stratum mortificatum des geschichteten Plattenepithelbelags". Wanneer hij van den tepel van een geslachte koe voorzichtig cysterna en tepelkanaal opensneed, het oppervlak van het tepelkanaal afkrabde en het schraapsel onderzocht, dan vond hij de typische „Bälge" uit de vroegere literatuur. Reeds in het begin van dit onderzoek hebben we niet kunnen gelooven, met epitheelcellen te maken te hebben. Deze zouden dan toch wel heel sterk afwijken van de cellen, welke men in urine en mondslim vindt. Ten overvloede is door ons het experiment van WINKLER herhaald; maar er werden geen vormsels gevonden, die op schuimvliesjes geleken.

In de voorgaande bladzijden is gebleken, dat de „Bälge" van WINKLER uit schuim ontstaan. Wellicht kan door onze waarnemingen ook op andere vraagstukken meer licht worden geworpen:

1. Uit onze proeven blijkt immers, dat reeds in den melkenner zichtbare veranderingen der melk optreden door de vorming van schuimvliesjes en korrelmassa's; zij vermeederen het sediment, dat men met behulp van TROMMSDORFF's buisjes verkrijgt. Hoe groot de invloed op de uitkomst is, werd door ons niet nagegaan; maar het wil ons voorkomen, dat deze ook voor practische doeleinden veelal niet verwaarloosd mag worden.

2. Centrifugemelk beantwoordt niet geheel aan het begrip melk-

1) ERNST, Milchhygiene, 1913.

*plasma*, als men daaronder zou willen verstaan de volle melk minus vetbolletjes en celementen. Niet alleen vindt men er nog enkele cellen en vetbolletjes in, maar bovendien zijn door het vormen van schuimvliesjes opgeloste stoffen in onopgelosten toestand overgegaan.

3. Reeds eerder is gezegd, dat in centrifugemelk het aantal schuimvliesjes veel grooter is dan in volle melk. Bovendien zijn die in de laatste gemiddeld grooter en dunner van wand. Het zou zeer zeker aanbeveling verdienen, na te gaan, *in hoeverre de schuimvliesjes*, die we ook in centrifugemelk uit den handel vonden, *kunnen dienen om vermenging van volle melk met centrifugemelk aan te toonen.*

4. Van beteekenis lijkt het ons ook, er op te wijzen, dat een groot aantal van de kleine gasbolletjes in de centrifugemelk verdwijnt, doordat de inhoud oplost in de omgevende vloeistof. Was dit niet het geval, dan zou men in het zuivelbedrijf nog meer hinder van het schuim ondervinden, doordat het *langer zou blijven staan.*

5. Tenslotte nog het volgende: Aan het schuim is herhaaldelijk beteekenis toegeschreven in verband met het *karnproces*. Nog in 1921 en 1922 is daarop door RAHN <sup>1)</sup> geweest. Hij stelt zich het karnproces als volgt voor: „Die Fettkügelchen der frischen Milch sind umgeben von einer sehr dünnen zähflüssigen Hülle eines Stoffes, der die Oberflächenspannung stark erniedrigt und daher stark schäumt. Dieser Stoff erstarrt an der Luftoberfläche zu einem festen Häutchen. Beim Buttern von süszem Rahm entsteht ein Schaum und die Schaumstoffe gehen in die Luftoberfläche. Sie reißen die Fettkügelchen, deren Hülle sie bilden, mit in die Schaumlamellen und durch diese starke Anhäufung von Fettkügelchen werden dieselben unter dem Oberflächendruck der dünnen Schaumlamellen zu Haufen fest zusammen gepreszt. Die Luftoberflächenschicht des Schaumstoffs erstarrt schnell, die festen Häutchen zerreißen durch die Bewegung im Fasse, der Schaum fällt zusammen, und aus den traubenartigen Häufchen werden Butterklümpchen, die nun grosz genug sind, um unter dem Einflusz der andauernden Bewegung schnell zu noch gröszeren Klümpchen zusammen zu kleben”.

Ook in de ondermelk zou deze stof in geringe hoeveelheden voorkomen. Na ons onderzoek kan met zekerheid worden gezegd, *dat inderdaad een stof in de melk voorkomt, die aan het lucht-oppervlak blijvend in vasten toestand overgaat, dus voldoet aan den eisch, die door RAHN daaraan is gesteld.* Bovendien kunnen we een methode aangeven, die het mogelijk maakt, deze vaste modificatie in grootere hoeveelheden te verzamelen; n.l. door het

<sup>1)</sup> RAHN, *Forschungen*, Bd. I, 1921, blz. 309 en Bd. II, 1922, blz. 76.

vergaren van het slib, dat ontstaat door het centrifugeeren van reeds eerder met den separator ontroomde melk.

Ook RAHN meent membraanvorming bij microscopisch onderzoek te hebben gezien; vooral wanneer het schuim, dat hij zonder dekglas bekeek, „zu troeknen anfang". In dit geval is de waarneming echter niet meer bewijzend. Duidelijke resultaten krijgt men, wanneer men de schuimende, versche ondermelk *onder het dekglas bekijkt*. Het oplossen van het gas uit de kleine belletjes en de daarbij achterblijvende schuimvliesjes schijnt RAHN niet te hebben waargenomen.

---

### Ueber Schaumhäutchen im Sedimente der Voll- und der Zentrifugemilch.

(Kurze Zusammenfassung obiger Ausführungen).

Besonders in *Zentrifugemilch* findet man eigentümliche, kreisrunde, doppelcontourirte Körperchen, die viel Ähnlichkeit mit roten Blutkörperchen haben. Ihre Zahl kann bis 2 000 000 pro c.c. betragen. Aus genauerer Untersuchung geht jedoch hervor, dass keine rote Blutkörperchen vorliegen, indem es sich um 10 bis 25 Micron messende, kugelrunde Hüllen handelt, die eine homogene, deutlich sichtbare Wand haben, die eine gewisse Menge (vielfach optisch leere) Flüssigkeit einschliesst. In anderen Fällen jedoch, besonders bei den grösseren Körperchen, ist die Wand sehr dünn, eingedrückt oder gefaltet, so dass die ursprüngliche Form bisweilen kaum oder gar nicht mehr zu erkennen ist.

Diese Körperchen findet man auch fast immer in normaler Vollmilch in kleineren, selten grösseren Mengen. Durchschnittlich sind sie etwas grösser (20—50 Micron) und zarter gebaut als diejenigen, welche in der Zentrifugemilch gefunden werden. WINKLER nannte sie „Bälge".

Aus zahlreichen Versuchen geht hervor, dass die Gebilde immer entstehen, wenn die Milch schäumt. Kolloide Substanzen häufen sich an der Oberfläche der Schaumbläschen an und gehen in feste Form über (Gelbildung). Später verschwindet aus den kleinen Bläschen das Gas, indem es sich in der Flüssigkeit löst, wie das in den Schlussbeobachtungen mikroskopisch deutlich zu sehen war. Die Häutchen jedoch, bleiben. Daneben ist sicher, dass die grösseren Bläschen den Inhalt durch bersten an die Luft abgeben.

Weil diese Gebilde aus dem Schaume der Milch entstehen, haben wir sie **Schaumhäutchen** genannt. Die Häutchen, die man in der Magermilch findet, entstehen also aus dem Schaume, der sich bildet, wenn die Magermilch in den Aufsatz, der zur Abführung derselben dient, geschleudert wird. Diejenigen, welche sich in der Vollmilch befinden, entstehen aus dem Schaume, der sich während des Melkens bildet.

Aus diesen Versuchen geht also hervor, dass die Milch schon

im Eimer sichtbare Aenderungen erleidet; dass die Schaumhäutchen eine neue klargelegte Fehlerquelle bei dem TROMMSDORFFSCHEN Sedi-  
mentierversuch bilden und dass Zentrifugmilch dem Begriff  
Milchplasma (= Vollmilch minus Fettkügelchen und geformte  
Elemente) tatsächlich nicht ganz entspricht.

Zuletzt wurde gezeigt, dass wir in den Schaumhäutchen viel-  
leicht den Stoff zu sehen haben, dem RAHN eine hervorragende  
Bedeutung bei dem Butterungsvorgang zuschreibt. Durch mehr-  
maliges Zentrifugieren der Milch erhält man einen Zentrifugen-  
schlamm, der hauptsächlich aus diesen Schaumhäutchen besteht  
und wahrscheinlich als Ausgangsmaterial zur Gewinnung des  
Schaumstoffes benutzt werden kann.

---