

# RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

---

## Over het wezen der vetbolletjesagglutinatie.

### IV.

#### Over serumglobuline in verband met de melkoprooming.

DOOR

E. BROUWER.

(Ingezonden 4 Februari 1925.)

---

### Inleiding.

Enkele jaren geleden werd door HEKMA <sup>1)</sup> gevonden, dat de oprooming der melk kan worden bevorderd door toevoeging van runder- of paardenbloedserum. Indien uit zich zelf slecht oproomende melk werd genomen, dan bleek na toevoeging van 1—2 pct. bloedserum reeds een begunstigende werking tot uiting te komen, terwijl bij een gehalte van 5, 10 en 15 pct. een stijgende invloed zich deed gelden. Dit opmerkelijke feit werd nader vastgelegd in cijfermateriaal, hetwelk door VAN DAM, HEKMA en SIRKS <sup>2)</sup> werd verzameld met behulp van een vroeger door VAN DAM en SIRKS <sup>3)</sup> uitgewerkte methode ter bepaling van den oproomgraad.

Als voorbeeld zij hier het volgende aangehaald.

Terwijl zich in de met 5 pct. water verdunde melk van één der koeien na 5 uren staan bij 12° C. nog geen 10 pct. van het melkvet in de roomlaag had verzameld, bleek bij een parallelproef, waarbij aan de melk van dezelfde koe 5 pct. bloedserum was toegevoegd, na denzelfden tijd en onder dezelfde omstandigheden 59,3 pct. van het aanwezige vet in de roomlaag te zijn opgehoopt. M. a. w.: de *oproomgraad* was in het eerste geval kleiner dan 10, in het tweede geval 59,3.

Met het oog op de mogelijkheid, dat de in het bloed, resp. in het bloedserum, aanwezig gedachte oprooming-bevorderende substantie wellicht in de melk zou kunnen overgaan om zoodoende

---

1) HEKMA, Verslagen landbouwk. onderz., Dl. 28, 1923, blz. 22.

2) VAN DAM, HEKMA en SIRKS, Idem, Dl. 28, 1923, blz. 100.

3) VAN DAM en SIRKS, Idem, Dl. 26, 1922, blz. 106.

20 403

ook bij de spontane oprooming een rol te kunnen spelen, werd een verder onderzoek naar deze merkwaardige eigenschap van het bloedserum ingesteld. Nadat aan HEKMA langs kwalitatieven weg was gebleken, dat bedoelde stof met de globuline uit het bloedserum kan worden afgescheiden, hetwelk nader langs quantitatieven weg door HEKMA en SIRKS<sup>1)</sup> werd onderstreept, scheen het in de eerste plaats zaak om te trachten de onderhavige stof nader te identificeeren.

Naar men weet, kan men bij de serumglobuline ten minste twee fracties onderscheiden, nl. de *euglobuline*-fractie, welke door verzadiging met  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  van 24 tot 33 pct. wordt uitgezouten en de *pseudo-globuline*-fractie, welke wordt neergeslagen tusschen 33 en 46 pct. verzadiging (velen nemen als bovenste grens een voor 50 pct. verzadigde oplossing). Het eerste deel van dit opstel betreft de afzondering van deze eiwitlichamen door uitzouting en het onderzoek van hun oprooming-bevorderend vermogen. In het tweede deel wordt aangetoond, dat het serum van jonge kalveren, in welke vloeistof de sterk werkzaam gebleken euglobuline nagenoeg ontbreekt, ook de oprooming niet of weinig bevordert, terwijl in het derde deel wordt nagegaan, in hoeverre de hier vermelde onderzoekingen nieuw licht op het wezen der spontane oprooming kunnen werpen.

## I.

Voor de *bereiding der beide eiwitfracties* (euglobuline en pseudoglobuline) werd serum gebruikt, hetwelk was verkregen door runderbloed te laten stollen, waarbij de verlangde vloeistof uit den bloedkoek wordt uitgeperst. Het serum werd daarna afgepipetteerd, zoo noodig afgecentrifugeerd en steeds versch voor het bovengenoemde doel gebruikt. Hiervoor werd het met drie deelen gedestilleerd water verdund, waarna eerst zóóveel van een verzadigde oplossing van ammoniumsulfaat werd toegevoegd, dat het mengsel voor 24 pct. was verzadigd. Een gering neerslag, dat hierbij mocht ontstaan, werd afgecentrifugeerd. Daarna werd de verzadiging successievelijk opgevoerd tot 33 en 46 pct. De beide, aldus uitgezouten eiwitfracties werden nogmaals opgelost en uitgezouten, waarbij uit de pseudoglobuline bij 33 pct. verzadiging nog een zekere hoeveelheid eiwit neersloeg, zooals ook door anderen<sup>2)</sup> bij dergelijke scheidingen werd waargenomen. Dit neerslag werd afgezonderd, nog weer opgelost en opnieuw aan het scheidingsproces onderworpen, waarna beide gedeelten bij de overeenkomstige fracties werden gevoegd. Aldus werden ten slotte twee verschillende eiwitlichamen verkregen, welke tweemaal (gedeeltelijk driemaal) waren uitgezouten. Daarna werd gedurende enkele dagen onder toevoeging van een paar

1) HEKMA en SIRKS, Verslagen landb. onderz., Dl. 29, 1924, blz. 94.

2) Zie b.v. HASLAM, Bioch. Journ., Vol. 7, 1913, blz. 492.

stukjes thymol met behulp van collodium-hulzen <sup>1)</sup> in stroomend water gedialyseerd.

De gedialyseerde oplossingen werden nu met behulp van NaCl op gelijk zoutgehalte gebracht, waarna beide fracties, naast de in de ijskast met thymol bewaarde rest van het serum, waarvan was uitgegaan, op hun oprooming-bevorderend vermogen werden onderzocht (tabel II, n°. 1). Bij de beide latere proefnemingen (tabel II, n°. 2 en 3), waarbij telkens het serum van andere runderen werd gebruikt, werd de reiniging nog iets verder voortgezet. Bij de dialyse bleek nl., dat niet al het eiwit in de euglobuline-fractie uitvlokte, zooals van dit lichaam werd verwacht, maar dat een gedeelte in oplossing bleef; dit opgeloste eiwit werd thans na centrifugeeren verwijderd. Omgekeerd bleek, dat de volgens bovenstaand voorschrift bereide pseudoglobuline bij het voortschrijden der dialyse niet geheel in oplossing bleef, maar dat een gering deel uitvlokte en dus geen pseudoglobuline kon worden genoemd. Hier werd het neerslag verwijderd.

Natuurlijk heeft men ook dan nog geen zuivere euglobuline en pseudoglobuline in handen. Toch hebben wij na eenige minder gunstige ervaringen de reiniging niet verder voortgezet uit vrees voor veranderingen in de oplosbaarheid der eiwitten en voor beschadiging van de werkzaamheid, terwijl ook de onvermijdelijke verliezen bij de herhaalde bewerkingen ertoe bijdroegen om ons in het aantal van de laatste te beperken.

Voor de methodiek der bepaling van den oproomgraad verwijzen wij naar het opstel van VAN DAM en SIRKS <sup>2)</sup>. In de aldaar genoemde werkwijze hebben wij een onbeteekenende wijziging aangebracht, daartoe genoopt door de geringe hoeveelheden vloeistof, die wij tot onze beschikking hadden. Daarom werd het toevoegsel (serum, keukenzout-oplossing, globuline-oplossingen) niet bij de nog warme melk gedaan, maar bij de op 12° C. afgekoelde vloeistof, terwijl ze in de oproomcilinders liep. In een desbetreffende proef, welke later nog eens werd herhaald, bleek, dat hierdoor de oprooming niet werd verminderd, maar integendeel iets grooter werd (tabel I). Het betreft een punt, dat van eenig practisch belang zou kunnen worden, indien men ertoe mocht overgaan, zekere toffen aan de melk toe te voegen om de oprooming van bepaalde melksoorten sneller te doen plaats grijpen. Ook zou het misschien zin hebben om te onderzoeken of snelle afkoeling der versch gemolken melk ook voor een goede oprooming niet van eenig belang is. Dit zijn dan ook de redenen, waarom van dit, overigens voor ons betoog onbelangrijke feit, terloops melding wordt gemaakt.

1) WALPOLE, *Bioch. Journ.*, Vol. 9, 1915, blz. 284.

2) VAN DAM en SIRKS, l. c.

TABEL I.

*Vershil in oprooming, wanneer onverwarmd runderbloedserum vóór verwarming, ná verwarming of nog later na afkoeling van de melk aan de laatste wordt toegevoegd.*

Proefnummer.	Datum.	Gebruikte melk.	Duur en temperatuur der oprooming.	Toevoegsel.	Vetgehalte (in pct.)			Hoogte roomlaag. (in m.M.)	Oproomgraad.
					Mengsel.	Room.	Ondermelk.		
1.	19-XI-'23	Koe n <sup>o</sup> . 12.	4 u. 12° C.	5 pct. serum bij de afgekoelde melk . . . . .	3,49	22,48	1,50	28	65,1
				5 pct. serum bij de warme melk . . . . .	3,83	22,38	1,76	28	59,6
				5 pct. serum vóór verwarmen der melk op 40° C . . . . .	3,63	21,08	1,93	25	53,6
				5 pct. NaCl 0,6 pct. . . . .	3,81	—	3,63	4	± 6
2.	6-I-'25.	Koe n <sup>o</sup> . 42.	3 u. 12° C.	2 pct. serum bij de afgekoelde melk . . . . .	3,41	20,86	1,91	22	47,6
				2 pct. serum bij de warme melk . . . . .	3,42	20,98	2,16	20	41,7
				2 pct. serum vóór verwarmen der melk op 40° C . . . . .	3,45	20,30	2,17	18	40,3
				2 pct. NaCl 0,6 pct. . . . .	3,41	—	—	geen roomlaag.	

*Bij alle drie proeven (tabel II) was de globuline in twee componenten gesplitst, waarvan de ééne (euglobuline) de oprooming sterk bevorderde, terwijl de andere (pseudoglobuline) een veel zwakkere, maar toch duidelijk positieve werking uitoefende.*

Bij de eerste proef (I) werden beide globuline-oplossingen, behalve op een gelijk zoutgehalte, ook op een gelijk eiwitgehalte gebracht. Daarna werd de oprooming-bevorderende werking nagegaan bij de melk van twee verschillende koeien. De euglobuline-oplossing met 2,8 pct. eiwit bevorderde de oprooming bijna even sterk als het serum, dat 7,1 pct. eiwit bevatte. Op eenzelfde eiwitgehalte omgerekend werkte de euglobuline dus rond 2,5 maal zoo sterk als het serum, waaruit ze was bereid. De invloed van de pseudoglobuline, daarentegen, was nog iets geringer dan die van viermaal verdund serum. Rekent men ook hier op eenzelfde eiwitgehalte om, dan blijkt de bevordering ruim half zoo groot als die van serum te zijn geweest. De bij deze proef verkregen euglobuline werkte dan ook 4 à 5 maal zoo sterk als de pseudoglobuline, welke uit hetzelfde serum was verkregen.

Nog grooter was het verschil bij de tweede en derde proef, waarbij de scheiding, zooals gezegd, iets verder werd voortgezet. Bij de tweede bevorderde de euglobuline de oprooming minstens zesmaal zoo sterk als het serum; van de pseudoglobuline werd nauwelijks eenige werking gezien. En bij de derde werkte de euglobuline ongeveer 3½ maal zoo sterk als het serum, de pseudo-

TABEL II.

Invoed op de opgroeiing van euglobuline en pseudoglobuline, vergeleken met het runderserum, waaruit deze eivulichamen werden bereid.

Proefnummer	Datum.	Gebruikte melk.	Duur en temperatuur der opgroeiing.	Toevoegsel.	Eiwitgehalte (in pct.)	Vetgehalte. (in pct.)			Hoogte roomlaag. (in m.M.)	Opvoingtraad.	Opmerkingen.
						Mengsel.	Room.	Ondermelk.			
1.	20-XI-23.	Koe n <sup>o</sup> . 12.	4 u. 12° C.	5 pct. euglobuline-oplossing. . . . .	2,8	3,47	25,68	1,17	23	67,6	Het bloedserum (koe) werd met NaCl 0,9 pct. verdund. Zoutgehalte der globuline-oplossingen 0,9 pct.
				5 pct. pseudoglobuline-oplossing . . . . .	2,8	3,47	27,22	2,55	9	26,5	
				5 pct. runderserum . . . . .	7,1	3,47	25,11	1,00	26	73,1	
				5 pct. idem, tot 1/2 verdund. . . . .	8,6	3,47	25,63	1,80	20	51,7	
				5 pct. idem, tot 1/4 verdund. . . . .	1,8	3,47	26,16	2,39	11	31,7	
2.	21-XI-23.	Koe n <sup>o</sup> . 19.	5 u. 12° C.	5 pct. NaCl 0,9 pct. . . . .	0,0	3,47	—	—	—	< 10	
				5 pct. euglobuline-oplossing. . . . .	2,8	3,93	18,57	3,07	14	25,6	
				5 pct. pseudoglobuline-oplossing . . . . .	2,8	3,93	17,27	3,50	8	13,6	
				5 pct. runderserum . . . . .	7,1	3,93	17,15	3,12	16	25,5	
				5 pct. idem, tot 1/4 verdund. . . . .	1,8	3,93	17,09	3,48	9	14,3	
3.	11-III-24.	Koe n <sup>o</sup> . 12.	4 u. 12° C.	5 pct. NaCl 0,9 pct. . . . .	0,0	3,61	16,84	3,68	4	9,1	Aan het runderserum (koe) werd zoveel keukenzout toegevoegd, dat het gehalte 0,9 pct. hooger werd. De verdunningen van het runderserum hadden plaats met NaCl 1,25 pct. Zoutgehalte der globuline-oplossingen 1,25 pct.
				5 pct. euglobuline-oplossing. . . . .	1,3	3,61	20,45	1,85	24	53,9	
				5 pct. pseudoglobuline-oplossing . . . . .	1,3	3,61	—	3,41	3	9,3	
				5 pct. runderserum . . . . .	7,1	3,61	20,15	2,18	20	45,5	
				5 pct. idem, tot 1/2 verdund. . . . .	2,4	3,61	21,39	3,00	10	21,0	
3.	11-III-24.	Koe n <sup>o</sup> . 12.	4 u. 12° C.	5 pct. idem, tot 1/4 verdund. . . . .	1,2	3,61	—	3,98	4	16,2	Het serum is afkomstig van een stier. Zouttoevoeging bij en verdunning van het serum als in n <sup>o</sup> . 2. Zoutgehalte der globuline-oplossingen 1,25 pct.
				5 pct. NaCl 1,25 pct. . . . .	0,0	3,61	—	3,43	2	6,7	
				5 pct. euglobuline-oplossing. . . . .	1,9	3,89	16,66	1,65	28	55,7	
				5 pct. pseudoglobuline-oplossing . . . . .	2,9	3,89	17,03	2,68	12	23,5	
				5 pct. runderserum . . . . .	6,4	3,89	16,78	1,82	30	57,4	
3.	13-III-24.	Koe n <sup>o</sup> . 13.	6 1/2 u. 12° C.	5 pct. idem, tot 1/2 verdund. . . . .	2,1	3,89	16,78	2,10	23	42,5	
				5 pct. idem, tot 1/4 verdund. . . . .	1,1	3,89	16,98	2,40	18	33,4	
				5 pct. NaCl 1,25 pct. . . . .	0,0	3,89	17,29	2,80	10	17,0	
				5 pct. euglobuline-oplossing. . . . .	1,9	3,75	17,03	3,23	10	16,6	
				5 pct. pseudoglobuline-oplossing . . . . .	2,9	3,75	17,70	3,38	6	11,8	
3.	13-III-24.	Koe n <sup>o</sup> . 13.	6 1/2 u. 12° C.	5 pct. runderserum . . . . .	6,4	3,75	16,00	3,19	10	17,3	
				5 pct. idem, tot 1/2 verdund. . . . .	2,1	3,75	16,66	3,35	8	13,7	
				5 pct. idem, tot 1/4 verdund. . . . .	1,1	3,75	16,78	3,58	8	13,4	
				5 pct. NaCl 1,25 pct. . . . .	0,0	3,75	—	—	—	—	
				5 pct. idem, tot 1/4 verdund. . . . .	1,1	3,75	16,78	3,58	8	13,4	

globuline-fractie daarentegen minder dan  $\frac{1}{2}$  maal zoo sterk, alles weer omgerekend op éézelfde eiwitgehalte.

Verder blijkt uit deze proef, dat ook het bloedserum van een stier de oprooming bevordert en dat wij hier niet met een uitzonderingsgeval te doen hadden, bleek uit onze waarnemingen met het serum van twee andere mannelijke dieren, dat ook sterk werkzaam bleek te zijn. Hieruit volgt dus, *dat de oprooming-bevorderende werking van het bloedserum zoowel geldt voor het mannelijke als het vrouwelijke rund.*

Zooals indertijd door FÄHRÆUS <sup>1)</sup> werd gevonden, deden de (uit bloedplasma bereide) eiwitlichamen met de grootste viscositeit de roode bloedcellen, welke in hun oplossingen werden gesuspendeerd, het snelst samenballen en bezinken. Ook bij de door ons bereide eiwitten was verschil waarneembaar; de *viscositeit der euglobuline-oplossingen was nl. het grootst.* Voorloopig wenschen wij hieraan evenwel geen theoretische beschouwingen vast te knoopen (tabel III).

TABEL III.

*Viscositeit van euglobuline- en pseudoglobuline-oplossingen, gemeten met OSTWALD's viscosimeter.*

Proef-nummer.	Te onderzoeken vloeistof.	Eiwit-gehalte (in pct.).	Zout-gehalte (in pct.).	Uitvloeitijd bij 12° C. (in sec.).
1.	Euglobuline . . . . .	2,8	0,9	110
	Pseudoglobuline. . . . .	2,8	0,9	94
2.	Euglobuline . . . . .	1,3	1,25	95
	Pseudoglobuline. . . . .	1,8	1,25	84
	Gedest. water . . . . .	—	—	75

Opgemerkt dient te worden, dat het niet gelukte, het oprooming-bevorderend principe algeheel in de euglobuline te concentreren. Slechts  $\frac{1}{5}$  gedeelte werd teruggevonden. Men kan evenwel ook nauwlijks verwachten, dat niet een belangrijk deel verloren zal gaan, want bij de vrij langdurige bewerking gaan taaeljk groote hoeveelheden eiwit verloren, terwijl het bovendien aannemelijk is, dat tegelijkertijd een beschadiging van de bewuste eigenschap intreedt. *Vast staat intusschen, dat de euglobuline, afgescheiden met behulp van ammoniumsulfaat, de oprooming sterk bevordert, terwijl de pseudoglobuline slechts zeer zwak werkzaam is.*

1) FÄHRÆUS, Act. med. scand., Bd. 55, 1921, blz. 3.



5 cc. bloedsrum van een stier (cil. 1), van een kalf (cil. 2) en van een koe (cil. 3) tot 50 cc. met aq. dest. verdund en vervolgens 25 cc. verzadigde ammoniumsulfaatoplosing toegevoegd. In het verdunde koe- en stiersrum is een vrij dik neerslag van euglobuline ontstaan; in het kalssrum daarentegen niet.

## II.

Wij hebben ons nu afgevraagd, of dit vermogen van de euglobulinefractie om de vetbolletjes te doen agglutineeren een eigenschap van de euglobuline zelve is, of dat de verklaring aldus moet zijn, dat een bepaalde agglutineerende stof bij het uitzouten vooral door de euglobuline wordt geadsorbeerd en aldus méé wordt neergeslagen, een stof dus, die in het serum zou kunnen voorkomen, zonder dat euglobuline daarin aanwezig is.

Wanneer de eerstgenoemde mogelijkheid de juiste is, dan mag een zoodanig serum, dat van nature geen euglobuline bevat, ook de oprooming niet bevorderen. Oogenschijnlijk is het niet gemakkelijk een dergelijk serum te vinden. Evenwel, de onderzoekingen van HOWE<sup>1)</sup> en anderen brachten ons er toe dezen weg in te slaan. HOWE vond namelijk, dat het bloedserum van pasgeboren kalveren zeer arm is aan euglobuline, een vondst, welke wij in een desbetreffende proef al dadelijk konden bevestigen (zie fig.).

*Van dit kalfsserum, waarin de euglobulinefractie bijna totaal ontbrak, werd nu het oprooming-bevorderend vermogen bij de melk van twee verschillende koeien nagegaan en inderdaad bleek dit minimaal te zijn.*

TABEL IV

*Oprooming-bevorderende werking van bloedserum van een pasgeboren kalf, vergeleken met het bloedserum van twee volwassen dieren, nagegaan bij de melk van twee koeien.*

Proefnummer.	Datum.	Gebruikte melk.	Duur en temperatuur der oprooming.	Toevoegsel (5 pct.).	Vetgehalte (in pct.).			Hoogte roomlaag (in mM.).	Oproomgraad.	Opmerkingen.
					Mengsel.	Room.	Ondermelk.			
1.	18-II-'24	Koe n <sup>o</sup> . 12	4 u. 12° C.	NaCl 0,6 pct. . .	3,20	—	3,06	4	5,2	De verdunning van het koenserum geschiedde telkens, waar dit is opgegeven, met NaCl 0,6 pct.
				Aq. dest. . . . .	3,20	—	2,99	4	8,0	
				Kalfsserum . . . .	3,20	—	3,01	4	7,1	
				Stierserum . . . .	3,20	19,21	1,95	20	43,1	
				Koenserum . . . .	3,20	18,95	1,94	20	44,9	
				Koenserum 4 × verdund . . . .	3,20	19,89	2,48	10	23,9	
2.	19-II-'24	Koe n <sup>o</sup> . 19	6 1/2 u. 12° C.	NaCl 0,6 pct. . .	3,44	—	3,22	4	9,3	
				Aq. dest. . . . .	3,44	—	3,10	4	11,7	
				Kalfsserum . . . .	3,44	—	3,09	4	11,9	
				Stierserum . . . .	3,44	18,57	2,94	8	17,3	
				Koenserum . . . .	3,44	17,70	2,95	10	17,8	
				Koenserum 4 × verdund . . . .	3,44	18,63	2,99	8	14,7	

1) Howe, Journ. of biol. chem., Bd. 49, 1921, blz. 93, 109 en 115.

Idem Bd. 52, 1922, blz. 51.

Idem Bd. 53, 1922, blz. 479.

Journ. exper. med., Bd. 39, 1924, blz. 313.



Deze uitkomst was de aanleiding om een iets dieper gaand onderzoek in te stellen omtrent de *eiwitfracties in het bloeds serum van een aantal pasgeboren kalveren en volwassen runderen*; van het kalfsserum werd tevens het oprooming-bevorderend vermogen nagegaan.

HOWE verrichtte zijn eiwitbepalingen (voor zoover men hier dan van bepalingen mag spreken) met behulp van een micro-KJELDAHL-methode, nadat hij de eiwitlichamen met behulp van  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -oplossingen van verschillende concentraties bij lichaamstemperatuur van elkaar had gescheiden. In aansluiting aan de voorafgaande proeven werd door ons aan de meer „klassieke” scheiding met behulp van  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  vastgehouden, waarbij wij ons in hoofdzaak hielden aan de aanwijzingen van POHL <sup>1)</sup>.

Na tien- of twintigvoudige verdunning (al naarmate het serum van kalveren of volwassen runderen betrof <sup>2)</sup>) werd in den kelder, waar een gelijkmatige, tamelijk lage temperatuur heerschte,  $\frac{1}{2}$  volume verzadigde ammoniumsulfaatoplossing aan de te onderzoeken sera toegevoegd; het mengsel was dus voor 33 pct. verzadigd <sup>3)</sup>. Na 24 uren werd een afgemeten hoeveelheid van dit mengsel gecentrifugeerd en het sediment door een gewogen filter gefiltreerd en gewasschen met voor  $\frac{1}{2}$  verzadigde  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -oplossing, waarna trechter en filter + neerslag tot 105° C. werden verwarmd. Vervolgens werd met heet water, alcohol en aether gewasschen en het filter + neerslag tot constant gewicht bij 105° C. gedroogd. Daar deze bepaling door de zeer geringe hoeveelheden euglobuline, welke ten slotte worden gewogen, met een aanzienlijke fout is behept, werd tevens vóór de filtratie 10 cc. van de vloeistof in een buisje van TROMMSDORFF gedurende 30 min. in een centrifuge van RUNNE (+ 3000 toeren per min.) gecentrifugeerd en het aantal deelstreepjes van het sediment afgelezen.

De vloeistof, waaruit de euglobuline door centrifugeeren was verwijderd, werd door verdere toevoeging van ammoniumsulfaat voor 46 pct. verzadigd, waarna het eiwitgehalte der vloeistof, vóór en na opnieuw centrifugeeren, gewichtsanalytisch (na coagulatie door verhitting onder azijnzuurtoevoeging) werd bepaald. Aldus konden ook gegevens omtrent de pseudoglobuline- en albuminefractie worden verzameld.

Daar door langeren tijd staan er verschuivingen in de onderlinge verhouding der eiwitfracties kunnen ontstaan, werd er voor gezorgd, dat met de analyses steeds op den dag, volgende op den datum van bloedwinning, een aanvang werd gemaakt.

Het benodigde bloed werd, voor zoover het kalveren betrof, enkele uren na de geboorte door venepunctie verkregen; dat van de volwassen dieren werd bij het slachten opgevangen. De verdere behandeling ter bereiding van het serum geschiedde als onder I is aangegeven.

1) POHL, Arch. f. exper. Pathologie u. Pharmakol., Bd. 120, 1886, blz. 426.

2) Dit met het oog op het lage eiwitgehalte van kalfsserum.

3) Indien reeds bij 24 pct. verzadiging een gering neerslag ontstond, werd dit eerst afgecentrifugeerd.

De onderstaande tabellen geven een beeld van de aldus gevonden hoeveelheden der eiwitlichamen in deze sera.

TABEL V.

*Eiwitfracties van het bloedserum van pasgeboren kalveren.*  
(Aantal Gr. per 100 c.c.)

Volgnummer.	Geslacht.	Datum van venepunctie.	Totaal eiwit.	Albumine.	Pseudo-globuline.	Euglobuline.	
						Gewichts-analytisch.	Deelstr. Trommsdorff.
1.	vrl.	5-V-'24.	4,76	3,50	1,24	<b>0,02</b>	<b>2,5</b>
2.	mnl.	5-VI-'24.	3,93	0,97	2,85	<b>0,11</b>	<b>12,0</b>
3.	vrl.	25-VI-'24.	4,50	2,37	2,04	<b>0,09</b>	<b>7,0</b>
4.	vrl.	4-XI-'24.	4,47	3,15	1,30	<b>0,02</b>	<b>1,0</b>
5.	vrl.	11-XII-'24.	4,20	3,00	1,19	<b>0,01</b>	<b>1,0</b>
Gemiddeld . . . . .			<b>4,37</b>	<b>2,60</b>	<b>1,72</b>	<b>0,05</b>	<b>4,7</b>

TABEL VI.

*Eiwitfracties van het bloedserum van volwassen runderen.*  
(Aantal Gr. per 100 cc.)

Volgnummer.	Geslacht.	Datum.	Totaal eiwit.	Albumine.	Pseudo-globuline.	Euglobuline.
1.	vrl.	27-V-'24.	7,23	0,76	5,81	<b>0,66</b>
2.	vrl.	15-VIII-'24.	8,71	0,78	6,74	<b>1,19</b>
3.	vrl.	4-IX-'24.	7,55	0,56	5,15	<b>1,84</b>
4.	vrl.	25-IX-'24.	6,83	0,76	5,25	<b>0,82</b>
5.	mnl.	25-IX-'24.	5,54	0,63	3,89	<b>1,02</b>
6.	vrl.	2-X-'24.	7,05	2,68!	3,65	<b>0,72</b>
Gemiddeld . . . . .			<b>7,15</b>	<b>1,03</b>	<b>5,08</b>	<b>1,04</b>

Wanneer men het totaal eiwit in beide gevallen op 100 stelt, dan krijgt men voor de fracties de volgende getallen.

TABEL VII.

*Onderlinge verhouding van de eiwitfracties in bloedserum van kalveren en van volwassen runderen, totaal eiwit telkens 100 gesteld.*

	Totaal eiwit.	Albumine.	Pseudo-globuline.	Euglobuline.
Volwassen dieren . . . . .	100	14,4	71,1	14,5
Pasgeboren kalveren . . . . .	100	59,5	30,4	1,1

Hieruit blijkt, dat beide sera belangrijke hoeveelheden pseudoglobuline <sup>1)</sup> en albumine bevatten, maar dat alléén in het kalsserum het gehalte aan euglobuline uiterst gering is.

Evenals bij de bovenvermelde proef kon ook van deze kalssera een opzooiming-bevorderende werking niet worden vastgesteld (zie tabel VIII). Om plaats te winnen worden de analyseverslagen niet, zooals vroeger, volledig medegedeeld, maar alleen de opzooimgraden vermeld.

TABEL VIII.

Opzooimgraad der melk na toevoeging van de versche bloedsera van pasgeboren kalveren.

	Opzooimgraad.					
	Melk van koe 12.	Melk van koe 4.	Melk van koe 19.	Melk van koe 19.	Melk van koe 31.	Melk van koe 42.
5 pct. NaCl 0,6 pct. . . . .	18,2	61,2	36,1	37,7	21,6	7,3
5 pct. aq. dest. . . . .	23,7	72,3	41,6	45,0	27,1	7,7
5 pct. kalsserum. . . . .	18,5 <sup>1)</sup>	61,5 <sup>2)</sup>	36,3 <sup>2)</sup>	40,1 <sup>3)</sup>	20,5 <sup>4)</sup>	4,3 <sup>5)</sup>
5 pct. runderserum 6 × verd.	23,7	64,2	43,0	45,4	30,6	26,3
5 pct. idem 2 × verdund . .	—	68,3	50,4	51,4	41,7	57,2
5 pct. idem onverdund . . .	25,3	—	—	58,6	47,6	73,8

1) Kalf n<sup>o</sup>. 1. 2) Kalf n<sup>o</sup>. 2. 3) Kalf n<sup>o</sup>. 3. 4) Kalf n<sup>o</sup>. 4. 5) Kalf n<sup>o</sup>. 5.

De verdunningen hadden steeds plaats met NaCl 0,6 %.

Het runderserum was telkens van verschillende (volwassen) dieren afkomstig, voor zoover het verschillende kolommen betreft.

Voor de analyses van het kalsserum zij verwezen naar tabel V.

Merkwaardig is de volgende waarneming van HOWE <sup>2)</sup>. Hij zag namelijk, dat bij een kalf zeer spoedig na de geboorte euglobuline in aanmerkelijke hoeveelheden in het bloed aantoonbaar werd; althans wanneer biest — welke, in tegenstelling met gewone melk, veel euglobuline bevat — werd gegeven en vooral, wanneer deze biest bijzonder rijk aan euglobuline was. Onder deze omstandigheden steeg het euglobulinegehalte in het bloed <sup>3)</sup> van één der onderzochte dieren tot 2 pct. (6,25 × N). HOWE veronderstelt, dat de euglobuline onveranderd door den darmwand wordt geresorbeerd en aldus in het bloed geraakt om daar belangrijke opdrachten te vervullen. ORCUTT en HOWE <sup>4)</sup> slaagden er b.v. in om aan te

1) HOWE meent, evenals indertijd PORGES en SPIRO (Hofmeister's Beiträge, Bd. 3, 1903, blz. 277) en REISS (hetzelfde tijdschrift, Bd. 4, 1904, blz. 150), dat de pseudoglobuline nog weer uit twee verschillende fracties bestaat: pseudoglobuline I en II. Hiervan zou de het gemakkelijkst uit te zouten pseudoglobuline I in het serum van pasgeboren kalveren ontbreken. Wij zijn hem evenwel, met het oog op de vage grens tusschen beide lichamen, daarin voorshands niet gevolgd. De meeste schrijvers, waaronder HASLAM (Journ. of physiol., Bd. 32, 1905, blz. 267 en Bioch. Journ., Bd. 7, 1913, blz. 492), ontkennen op grond van nauwkeurig uitgevoerde proeven het bestaan van twee pseudoglobulinen.

2) HOWE, l. c.

3) Waarschijnlijk is bloedserum bedoeld.

4) ORCUTT en HOWE, Journ. of exper. Med., Bd. 36, 1922, blz. 291.

toonen, dat het serum van dergelijke kalveren tegelijk met de positieve euglobulinereactie ook agglutineerende eigenschappen voor *bacillus abortus* krijgt, wanneer de op deze bacil ingestelde agglutinenen zich in de gedronken biest bevonden; een verschijnsel dus, dat nauw samenhangt met dat, hetwelk ons hier bezig houdt.

Volgens de zienswijze dezer schrijvers krijgt het organisme aldus de beschikking over stoffen, die het gedurende de eerste levensdagen tegen een invasie van bacteriën beschermen. In dit verband willen wij nog op enkele andere onderzoeken wijzen. Zoo bleek aan SMITH en LITTLE <sup>1)</sup> in opzettelijk genomen proeven de voorbehoedende werking van biest tegen de bekende *dysentaria neonatorum* der pasgeboren kalveren, welke ziekte veelal gepaard gaat met een overstroming van het lichaam door bepaalde colistammen (*colibacillose*). Reeds lang wordt trouwens bij de prophylaxis tegen deze ziekte aan het colostrum groote waarde toegeschreven, want men kent den ongunstigen invloed van het geven van gekookte melk als eerste maaltijd (JENSEN) en men weet ook, dat juist nuchtere dieren zoo gemakkelijk kunnen worden besmet (JOEST). In een volgend opstel zeggen de genoemde SMITH en LITTLE <sup>2)</sup>, dat zij een dergelijke, zij het niet even sterke, beschuttende werking tegen de *colibacillose* hebben gezien, wanneer naast voeding met gewone, dus niet werkzame, melk een willekeurig runderbloedserum bij de pasgeboren dieren werd ingespoten of bij de te drinken melk werd gevoegd. Intusschen is het aantal dieren, dat voor deze laatste proeven werd gebruikt, wél gering <sup>3)</sup>.

Het leek ons nu gewenscht om na te gaan, of ook bij onze kalveren het euglobulinegehalte in het bloedserum gedurende de eerste dagen toenam en zoo ja, of daarmee een vergroting van het opzuijing-bevorderend vermogen gepaard ging. Daarvoor werden dezelfde kalveren gebruikt als die, welke voor de bovenstaande proeven waren genomen.

TABEL IX.

*Eiwitfracties van het bloedserum van enkele dagen oude kalveren.*  
(Aantal Gr. per 100 cc.)

Volgnummer.	Geslacht.	Leeftijd.	Datum der venepunctie.	Totaal eiwit.	Albumine.	Pseudoglobuline.	Euglobuline	
							gewichtsanalytisch.	declstr. in Trommsdorff.
1.	vrl.	9 dagen	14.V.'24	5,41	3,32	1,98	0,11	6,5
2.	ml.	5 "	10.VI.'24	5,09	3,13	1,85	0,11	11,0
3.	vrl.	5 "	30.VI.'24	4,62	2,37	1,68	0,07	8,0
4.	vrl.	7 "	11.XI.'24	5,14	3,60	1,48	0,06	11,0
5.	vrl.	2 "	13.XII.'24	4,89	3,23	1,60	0,06	6,0
Gemiddeld . . . . .				5,03	3,23	1,72	0,08	8,5
Gemiddelde der sera der pasgeboren kalveren . . . . .				4,37	2,60	1,72	0,05	4,7

1) SMITH en LITTLE, Journ. of exper. Med., Bd. 36, 1922, blz. 181.

2) SMITH en LITTLE, Journ. of exper. Med., Bd. 36, 1922, blz. 453

3) Zie ook: SMITH en LITTLE, Journ. of exper. Med., Bd. 37, 1923, blz. 671.

Voor de eiwitfracties in het bloedserum van dezelfde kalveren vlak na de geboorte verwijzen wij naar tabel V.

Helaas bleek ons van de bewering der Amerikanen weinig. (Zie bovenstaande tabel.) Slechts in drie van de vijf gevallen was een zeer geringe vermeerdering van het euglobulinegehalte aantoonbaar. In overeenstemming hiermede bleef ook de oprooming-bevorderende werking minimaal (tabel X). Zelfs was geen bevordering waarneembaar, wanneer, zooals bij de kalveren 2, 3 en 4, beide sera in één en dezelfde proef met elkaar werden vergeleken; eerder zou van een geringe remming kunnen worden gesproken.

TABEL X.

*Vergelijking van de oprooming bevorderende werking van het bloedserum van pasgeboren (I) en van (dezelfde) eenige dagen oude kalveren (II).*

	Oproomgraad.				
	Melk van koe 4.	Melk van koe 19.	Melk van koe 19.	Melk van koe 31.	Melk van koe 42.
5 pct. NaCl 0,6 pct. . . . .	61,2	36,1	28,7	18,1	± 2
5 pct. aq. dest. . . . .	72,3	41,6	33,6	20,3	± 5
5 pct. kalfs-serum I . . . . .	61,5 <sup>1)</sup>	36,3 <sup>2)</sup>	31,2 <sup>3)</sup>	17,7 <sup>4)</sup>	± 3 <sup>5)</sup>
5 pct. kalfs-serum II . . . . .	56,9	32,3	26,2	1,68	11,9
5 pct. runderserum 6 × verdund	64,2	43,0	37,4	24,7	23,5
5 pct. runderserum 2 × verdund	68,3	50,4	45,4	30,6	54,6

1) Kalf n<sup>o</sup>. 2. 2) Kalf n<sup>o</sup>. 2. 3) Kalf n<sup>o</sup>. 3. 4) Kalf n<sup>o</sup>. 4. 5) Kalf n<sup>o</sup>. 5.

Toch kregen deze dieren steeds de versche biest en melk hunner eigen moeders; hetgeen niet werd opgedronken, werd als regel door de moeders zelf gebruikt. Bij de laatste proef (kalf n<sup>o</sup>. 5) evenwel, werd de rest van de eerstgemolken melk bewaard tot den volgenden dag en diende ook toen voor de voeding van het jonge dier. Na venepunctie op den derden dag bleek ook hier een slechts zeer geringe toename van het euglobulinegehalte in het bloedserum aantoonbaar te zijn. Het toeval wilde, dat wij de sera van dit kalf met behulp van melk konden onderzoeken, welke voor serumtoevoeging uiterst gevoelig was. Hierdoor bleek het inderdaad mogelijk te zijn, een zwakke, maar duidelijke vergrooting van het oprooming-bevorderend vermogen vast te stellen. Veel waarde willen wij echter aan deze kleine verschillen niet toekennen, zoodat voor ons het resultaat van de vergelijking der sera van pasgeboren en enkele dagen oude, met biest gevoede kalveren is geweest, dat bij de laatste met onze methodiek en bij ons vee een vermeerdering van het euglobulinegehalte in het bloedserum slechts even was aangeduid en dat een vergrooting van het oprooming-bevorderend vermogen in het algemeen niet kon worden vastgesteld. Alles, wat in dit gedeelte werd vermeld, is dus in

overeenstemming met de opvatting, dat de *opruiming-bevorderende werking een eigenschap is van de euglobuline als zoodanig of althans van een der stoffen, welke onder den naam euglobuline eventueel worden saamgevat*<sup>1)</sup> en niet aan een stof moet worden toegeschreven, welke, onafhankelijk van de euglobuline, in het bloedserum kan voorkomen en door adsorptie met de euglobulinefractie zou worden neergeslagen.

Toch denke men niet, dat de zaak zóó eenvoudig is, dat het opruiming-bevorderend vermogen recht evenredig is met de hoeveelheid eiwit, welke bij verzadiging tusschen 24 en 33 pct. uit het bloedserum van volwassen runderen wordt neergeslagen, want het is ons gebleken, dat ondanks groote verschillen in het aldus bepaalde euglobulinegehalte der versche sera, toch de invloed op de melk gelijk kan zijn.

### III.

Bij het uitvoeren van de onder I en II genoemde proeven, welke wel de hoofdzaak van dit opstel uitmaken, werden enkele waarnemingen gedaan, welke gevoeglijk hieraan kunnen worden toegevoegd; vooral ook met het oog op de vraag, of men thans niet zou kunnen nagaan, of ook de verschillen bij de spontane opruiming aan een hooger of lager gehalte aan euglobuline van de melk moeten worden toegeschreven.

Des te meer dringt deze vraag zich op, waar sinds lang<sup>2)</sup> bekend is, dat globulinen in geringe hoeveelheden in normale melk voorkomen en dat hieronder door CROWTHER en RAISTRICK<sup>3)</sup> en door HOWE<sup>4)</sup> ook euglobuline is onderkend en van nog meer belang is het, dat deze beide globulinen van melk en bloed, voor zoover men dit voor deze eiwitstoffen heeft nagegaan, identiek<sup>5)</sup> schijnen te zijn, wat voor de albumine zeer zeker moet worden ontkend, terwijl de caseïne in het bloed niet wordt aangetroffen, evenmin als de in alcohol oplosbare vierde eiwitstof der melk van OSBORNE en WAKEMAN<sup>6)</sup>.

Dat naast de eventueel werkzame euglobuline toch ook andere factoren van invloed zijn, is door het onderzoek van VAN DAM en SIRKS voor het eiwitgehalte en vetgehalte reeds gebleken. Bij onze

1) Mocht bij voortgezet onderzoek blijken, dat, gelijk HOWE veronderstelt, ook een wel-omschreven gedeelte van de pseudoglobuline in de sera van pasgeboren kalveren ontbreekt, dan blijft de mogelijkheid bestaan, dat ook aan dit eiwitlichaam (pseudoglobuline I) eenige opruiming-bevorderende werking toekomt. Ook de proefnemingen, vermeld onder I, sluiten dit niet uit.

2) SEBELIEN, Zeitschr. physiol. chem., Bd. 9, 1885, blz. 445.

EMMERLING, Zentralbl. Agrik. Chem., 1888, blz. 861.

3) CROWTHER en RAISTRICK, Bioch. Journ., Bd. 10, 1916, blz. 434.

4) HOWE, Journ. biol. chem., Bd. 52, 1922, blz. 51.

5) CROWTHER en RAISTRICK, l. c.

DUDLEY en WOODMAN, Bioch. Journ., Bd. 12, 1918, blz. 339.

WOODMAN, Bioch. Journ., Bd. 15, 1921, blz. 187.

WELLS en OSBORNE, Journ. infect. dis., Bd. 29, 1921, blz. 200.

6) OSBORNE en WAKEMAN, Journ. biol. chem., Bd. 33, 1918, blz. 243.

proeven namen wij waar, dat ook het *zoutgehalte* van invloed zou kunnen zijn. In vele gevallen werden namelijk naast elkaar 5 pct. water en 5 pct. NaCl 0,6 pct. aan de melk toegevoegd. Na de vermenging was de concentratie aan keukenzout in het eerste geval dus slechts 0,03 pct. lager dan in het tweede geval. Dit geringe verschil in zoutgehalte nu, had steeds eenig verschil in oproomgraad ten gevolge, zooals blijkt uit de onderstaande tabel. Daar tevens steeds een proef onder serumtoevoeging werd genomen, zijn ook de cijfers, welke hierop betrekking hebben, genoemd.

TABEL XI.

*Oproomgraad na toevoeging van 5 pct. NaCl 0,6 en van 5 pct. H<sub>2</sub>O.*

	Oproomgraad.													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Toegevoegd 5 pct. NaCl 0,6 pct. . . . .	5,2	21,3	18,2	29,3	9,3	36,1	37,7	28,7	24,9	35,2	61,2	21,6	18,0	
Toegevoegd 5 pct. H <sub>2</sub> O . . . . .	8,0	24,4	23,7	33,8	11,7	41,6	45,0	33,6	30,5	48,7	72,3	27,1	20,7	
Toegevoegd 5 pct. runderserum . . . . .	44,9	52,7	25,3	32,8	17,8	—	—	—	65,5	—	—	47,6	—	
Toegevoegd 2½ pct. runderserum + 2½ pct. NaCl 0,6 pct. . . . .	—	—	—	—	—	50,4	51,4	45,4	—	54,6	63,3	—	30,3	
Vetgehalten der mengsels (in pct.) . . . . .	3,20	2,57	3,43	2,91	3,44	2,12	3,21	2,79	3,85	4,45	2,29	4,28	4,26	
Oproomtijd (in uren) . . . . .	4	4	4	4	6½	4	4	4	4	4	4	3	3	
Melk van koe n°. . . . .	12	12	12	12	19	19	19	19	7A	31	4	31+15	31+15	
Datum (1924) . . . . .	18-II	18-III	9-V	16-V	19-II	13-VI	26-VI	1-VII	20-III	20-X	11-VI	5-XI	12-XI	

De oprooming had plaats bij 12° C.

De indruk van HEKMA en SIRKS <sup>1)</sup>, dat door een zeer zwakke zoutoplossing een remmende invloed op de oprooming wordt uitgeuefend, is door deze proeven dus bevestigd. Vermoedelijk is dit feit ook voor de spontane oprooming van belang, daar het zoutgehalte van de melk aan vrij groote schommelingen onderhevig is. Zoo zag POETSCHKE <sup>2)</sup>, die de melk van 96 koeien afzonderlijk onderzocht, een verschil in keukenzoutgehalte (berekend uit de chloorcijfers) van niet minder dan 0,13 pct., zelfs wanneer twee monsters met een buitengewoon hoog chloorgehalte niet worden meegeteld.

Van veel belang voor de kennis der spontane oprooming lijkt ons de waarneming, dat *niet alle melksoorten even „gevoelig” voor serumtoevoeging* zijn. Voor goed oproomende melk is de geringere gevoeligheid door HEKMA en SIRKS reeds vroeger opgemerkt; maar ook bij slecht oproomende melk bestaan groote verschillen. Dit bleek b.v. telkens, wanneer een (met andere doeleinden genomen) proef op achtereenvolgende dagen telkens met

1) HEKMA en SIRKS, l. c.

2) POETSCHKE, Journ. industr. and engin. chem., Bd. 4, 1912, blz. 38.

verschillende melksoorten, maar met hetzelfde serum, werd herhaald. Als demonstratie van deze, steeds weer opgedane, ervaring kan het onderstaande tabelletje dienen. De melk van koe 12 en 19 werd onder toevoeging van hetzelfde serum op twee opeenvolgende dagen onderzocht (20 en 21 November 1923), hetgeen later werd herhaald in twee, eveneens voor andere doeleinden opgezette proeven (18 en 19 Februari 1924) met serum van twee andere dieren.

TABEL XII.

*Vershil in oprooming-bevorderende werking van hetzelfde bloedsrum bij verschillende melksoorten.*

	Oproomgraad.			
	Melk koe 12.	Melk koe 19.	Melk koe 12.	Melk koe 19.
Toegevoegd 5 pct. NaCl-oplossing .	<i>geen roomlaag</i>	9,1	5,2	9,3
Toegevoegd 5 pct. koenserum . . .	73,1	25,5	44,9	17,8
Toegevoegd 5 pct. stierserum . . .	—	—	43,1	17,3
Vetpercentage van het mengsel . .	3,47	3,90	3,20	3,62
Oproombijid (in uren) . . . . .	4	5	4	6½
Datum . . . . .	20-XI-'23	21-XI-'23	18-II-'24	19-II-'24

De temperatuur, waarbij de oprooming plaats vond, was 12° C.

Hetzelfde serum, dat op 20 en 21 November is gebruikt, werd ook nog beproefd bij de melk van koe n°. 33. Hier had zich zelfs na zes uren nog geen roomlaag gevormd; ook niet wanneer serum was toegevoegd. Om hier toch een inzicht in de verplaatsing der vetbolletjes te krijgen, werd nagegaan, hoeveel vet van onder naar boven was opgestegen door een denkbeeldig vlak, gelegen op de halve hoogte der buis. Door laten afloopen van de onderste helft van het melkvolume kon het gevraagde na analyse van beide gedeelten gemakkelijk worden berekend.

TABEL XIII.

*Opstijging van het vet, met en zonder serumtoevoeging, in slecht oproomende melk van koe 33.*

Datum.	Gebruikte melk.	Duur en temperatuur der oprooming.	Toevoegsel.	Vetgehalte (in pct.)			Verschil onder en boven. (in pct.)	Aantal Gr. opgestegen vet.	Gr. vet in het mengsel.
				Mengsel.	Bovenste helft.	Onderste helft.			
21-II-'24	Koe n°. 33	6 u. 12° C	5 pct. NaCl 0,6 pct.	3,45	3,60	3,35	0,25	0,21	11,19
			5 pct. H <sub>2</sub> O . . . .	3,45	3,62	3,30	0,32	0,27	11,44
			5 pct. Koenserum .	3,45	3,60	3,25	0,35	0,29	11,24
			5 pct. Stierserum .	3,45	3,65	3,38	0,27	0,21	10,61



Uit de gevonden cijfers blijkt, dat de opstijging inderdaad steeds zeer gering is geweest. De getallen, die de verschillen in het vetpercentage der onderste en bovenste laag aangeven en dus resulteren uit twee bepalingen <sup>1)</sup> loopen niet meer dan 0,10 pct. uiteen, hetgeen binnen de proeffouten valt. Wij hebben hier dus te doen met melk, welke na toevoeging van 5 pct. serum niet merkbaar sneller oproomt. Microscopisch onderzoek leerde, dat van agglutinatie der vetbolletjes in dit mengsel weinig was te zien in tegenstelling met hetgeen werd waargenomen na vermenging van serum met andere, spontaan eveneens slecht oproomende, melk, welke echter wel reageerde met een hooger oproomgraad. Natuurlijk hebben wij ons ervan overtuigd, dat het serum, dat na de voorafgaande proeven enkele dagen (19 Februari—21 Februari) met thymol in de ijskast was bewaard, in dien tijd niet onwerkzaam was geworden.

Uit het voorgaande volgt, dat, ook al ware bij de spontane oprooming de euglobuline van overwegende beteekenis, het daarom niet zou vaststaan, dat deze substantie steeds in slecht oproomende melk ontbreekt, aangezien hier is aangetoond, dat *aan de slecht oproomende melk van bepaalde koeien euglobuline (+ andere serumbestanddeelen) kan worden toegevoegd, zonder dat daardoor éenige meetbare versnelling van de oprooming intreedt.* Het eventueel vinden van euglobuline in slecht oproomende melk mag dus de mogelijkheid niet doen uitsluiten, dat deze stof een groote rol speelt bij de spontane oprooming. Melk, welke niet reageert op serumtoevoeging, zou voor een dergelijk onderzoek moeten worden uitgesloten.

Verschillende oorzaken, over welke wij slechts enkele woorden in het midden wenschen te brengen, kunnen het eigenaardige gedrag van melk als van koef 33 verklaren. Het samentreffen van een bijzondere, voorloopig „biologisch” genoemde, constitutie van melk en bloedserum zou beslissend kunnen zijn omtrent een al of niet versnelde oprooming, zooals dat bij de agglutinatie van roode bloedcellen van den éenen mensch door het bloedplasma van den anderen mensch is waargenomen. (Groepen van LANDSTEINER.) Men zou ook kunnen denken, dat het serum slechts werkzaam is door tusschenkomst van andere stoffen, welke al of niet in de melk aanwezig zijn, voor welke opvatting de leer der immuniteit tal van analogieën biedt. Afgezien van nog andere mogelijkheden schijnt het ons op grond van hier niet vermelde proeven evenwel waarschijnlijker, dat in de „on gevoelige” melk bepaalde toestanden bestaan of zekere stoffen voorkomen, welke de bevorderende werking van het serum remmen. De oprooming zou dan de resultante zijn van bevorderende en remmende invloeden.

---

1) Methode-GERBER.

*Zusammenfassung.*

Vor zwei Jahren lieferten HEKMA und SIRKS den Nachweis, dass die in dem Blutserum vorhandene, die Aufrahmung fördernde Substanz tatsächlich mit der Globulinfraction grösztenteils aus dem Serum ausgefällt wird.

Bekanntlich kann die Globulinfraction durch Ausfällungen mit Ammoniumsulfat wieder in zwei verschiedene Fraktionen zerlegt werden, nämlich Euglobulin und Pseudoglobulin. Ersteres wird ausgesalzen, wenn seine Lösung für 33 % mit diesem Salze gesättigt wird, während Letzteres erst bei Halbsättigung mehr oder weniger vollständig ausgefällt wird.

In der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass von den in dieser Weise durch zweimalige Fällung aus Rinderblutserum bereiteten Eiweiskörpern das Euglobulin die Aufrahmung stark fördert, während das Pseudoglobulin nur schwach, aber doch deutlich positiv wirksam ist. Umgerechnet auf denselben Eiweiszgehalt förderte bei den verschiedenen Versuchen Ersteres die Aufrahmung etwa  $4\frac{1}{2}$ , 12 und 11 Mal so stark als Letzteres. Der grosse Unterschied zwischen dem ersten und den beiden anderen Versuchen beruht wahrscheinlich teilweise darauf, dass die Eiweiskörper in den letzten Versuchen etwas weiter gereinigt wurden. Das Euglobulin war resp.  $2\frac{1}{2}$ , 6 und  $3\frac{1}{2}$  Mal so stark wirksam als das mit Thymolzusatz im Eisschrank aufbewahrte Serum, aus dem beide Körper hergestellt wurden.

Die Viskosität der Euglobulinlösungen war beträchtlich grösser als die der Pseudoglobulinlösungen.

Auch das Blutserum des männlichen Rindes wirkt aufrahmungsfördernd.

Das Blutserum neugeborener Kälber enthält fast kein Euglobulin und fördert die Aufrahmung ebensowenig. Das kann am Besten so erklärt werden, dass *das aufrahmung-fördernde Vermögen hauptsächlich eine Funktion des Euglobulins selbst ist, oder wenigstens einer der Bestandteile, welche eventuell unter dem Namen Euglobulin zusammengefasst werden, und nicht einer Substanz, die unabhängig vom Euglobulin im Blutserum vorkommt, zugeschrieben werden muss.*

Die Sache ist jedoch nicht derartig, dass das die Aufrahmung fördernde Vermögen einfach proportional der Menge des Eiweisses ist, welche zwischen 24 und 33 Prozent Sättigung mit Ammoniumsulfat aus frischem verdünntem Rinderblutserum ausgefällt wird. Wir haben gesehen, dass diese Menge sehr verschieden sein kann bei Sera, welche etwa gleiche die Aufrahmung fördernde Wirkung haben.

Die Behauptung amerikanischer Forscher, dass die Euglobulinmenge im Blute des Kalbes alsbald bedeutend ansteige, wenn es nach der Geburt mit Kolostrum ernährt wird, konnte mit unserer Methodik bei unserem holländischen Viehschlage nicht oder nur in unerheblichem Masse bestätigt werden. Wie wir erwarteten hatte auch die aufrahmung-fördernde Wirkung nicht zugenommen.

Im Laufe dieser Untersuchungen wurden zwei Beobachtungen gemacht, welche für das Wissen der spontanen Aufrahmung vielleicht nicht ohne Interesse sind. Erstens wurde gezeigt, dass nach Zusatz von 5 % Kochsalzlösung (0,6 %) die Aufrahmung immer etwas geringer war als nach Zusatz von 5 % Wasser. Diese Differenz im Kochsalzgehalt des Gemisches ist viel kleiner als die Unterschiede, welche in normaler Milch einzelner Kühe gefunden werden können.

Zweitens wurde gezeigt, dass in der Struktur schlecht aufrahmender Milch verschiedener Kühe beträchtliche Unterschiede bestehen können, denn bei einigen von solchen Milcharten wurde die Aufrahmung durch 5 % Blutserumzusatz stark beschleunigt, während derselbe Zusatz bei den andern die Aufrahmung weniger stark oder sogar nicht merkbar förderte. Auch das wird eine künftige Theorie der Aufrahmung erklären müssen.

Zuletzt wurde die Möglichkeit diskutiert ob das Euglobulin auch bei der spontanen Aufrahmung eine Rolle spielen könne.

---