

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

Een nieuwe methode ter onderscheiding van rauwe en verhitte melk

DOOR

E. HEKMA.

(Ingezonden 24 October 1923).

Het trypaanblauw, een zure vitale kleurstof van colloïden aard, vindt, naar men weet, uitgebreide toepassing voor intravitale kleuringen.

Het is mij gebleken dat door deze kleurstof in de concentratie van een 1 pct. oplossing, waarin zij veelal wordt toegepast, ook de cellen der melk een zekere kleuring ondergaan. Gebruikt men evenwel een zeer zwakke oplossing, bijv. een oplossing van 0,1—0,2 pct., dan blijken de cellen der rauwe melk, bij een bepaalde werkwijze, ongekleurd te blijven, terwijl de cellen van op niet al te lage temperatuur verhitte melk gekleurd worden en wel in den regel diffuus.

Dit beginsel is het uitgangspunt geworden van een onderzoek, waarvan enkele resultaten in de navolgende bladzijden zijn vervat.

Een concentratie der trypaanblauwoplossing van 1 pct. is niet alleen daarom te hoog voor het hier gestelde doel omdat daardoor ook de cellen der rauwe melk worden gekleurd, maar bovendien omdat daarbij een precipitaat in de melk ontstaat. Men moet dan ook, zooals gezegd, veel zwakkere oplossingen nemen, waarbij het meest doelmatig is gebleken een oplossing van 0,15 pct. trypaanblauw in aq. dest. of in physiologisch keukenzout. Het gebruik van physiologisch keukenzout als oplosmiddel verdient de voorkeur, omdat in dit geval het aantal gesedimenteerde cellen in de rauwe melk in den regel een grooter is en de ongekleurde cellen veelal duidelijker waarneembaar zijn dan bij gebruik van water als oplosmiddel.

Methode.

De te onderzoeken melksoorten worden gefiltreerd door watten¹⁾, de trypaanblauwoplossing eveneens.

¹⁾ Deels om eventueel aanwezig vuil te verwijderen, maar, wat de verhitte melk betreft, vooral om de bij (hoogere) verhitting zich voordoende vormsels, die bij het onderzoek der mikroskopische preparaten zeer hinderlijk kunnen zijn, te verwijderen.

2100262

Men vermengt de melk en de kleurstofoplossing in gelijke deelen en brengt de vloeistof over in centrifugebuisjes. Wat de centrifugebuisjes betreft, werden door mij aanvankelijk conisch toeloopeende gebruikt, later geregeld de bekende buisjes van TROMMSDORFF met gegraduateerd capillair gedeelte. Genomen werd 5 c.c. melk en 5 c.c. kleurstofoplossing; bij de proefnemingen omtrent een mengsel van rauwe en verhitte melk werd van beide $2\frac{1}{2}$ c.c. + 5 c.c. kleurstofoplossing genomen.

Men laat de melk-kleurstofmengsels, na deze goed vermengd te hebben, gedurende 10 minuten bij kamertemperatuur aan zichzelf over; daarna wordt gedurende 20 minuten gecentrifugeerd. Gebruikt werd een RUNNE-centrifuge met ruim 2800 toeren. Er zet zich zoowel wat aangaat de proefbuisjes met verhitte melk, als met rauwe melk, een sediment en een roomlaagje af, in dier voege, dat het sediment des te grooter pleegt te zijn, naarmate de melk hooger verhit is geworden. Het materiaal moet vervolgens onmiddellijk of althans na korten tijd in bewerking worden genomen, teneinde de mogelijkheid te voorkomen, dat zich, tengevolge van een langere inwerking van de kleurstof, ook de cellen der rauwe melk licht gaan kleuren. Het roomlaagje wordt weggenomen en desgewenscht eveneens aan een onderzoek onderworpen. Vervolgens wordt de tusschenlaag, de ondermelk, afgepipetteerd, of, bij de TROMMSDORFFsche buisjes, eenvoudig afgegoten, terwijl daarna de daarbij boven het sediment aanwezig blijvende kleine vloeistofrest met een capillair pipetje wordt afgezogen.

Van ieder der sedimenten worden, nadat elk sediment op zichzelf zoe gelijkmatig mogelijk gemengd is — bij gebruikmaking van buisjes van TROMMSDORFF met een capillair pipetje — gelijke druppeltjes, resp. gelijke met gegraduateerde capillairpipettes afgemeten hoeveelheden, op voorwerpglazen gebracht; vervolgens wordt ieder druppeltje met een dekglas (men neme dekglazen van gelijke grootte) bedekt, zorgdragende, dat het materiaal zoo gelijkmatig mogelijk tusschen voorwerp- en dekglas wordt uitgespreid. Hiermede zijn de preparaten voor het mikroskopisch onderzoek gereed. Het onderzoek vindt dus plaats in vochtigen toestand van het materiaal, men laat de preparaten niet eerst luchtdroog worden. Men kan wat de bepaling van het aantal cellen betreft voor meer exacte waarnemingen natuurlijk van telkamers gebruik maken; voor practische doeleinden kan men echter zeer goed volstaan met de op vorengenoemde eenvoudige wijze vervaardigde preparaten, en de cellen daarin per gezichtsveld te tellen, desgewenscht onder gebruikmaking van een oculairkwadraat-micrometerglaasje. Men zoekt een groot aantal gezichtsvelden af (wat door gebruikmaking van een verschuifbare objecttafel uiteraard zeer wordt vergemakkelijkt) en verkrijgt een gemiddelde per gezichtsveld door het totaal aantal getelde cellen door het aantal doorgezochte gezichtsvelden te deelen. Het gebruik van een Immersie-systeem is niet noodig; met een droogstelsel, dat een vergrooing geeft van 300—400, b.v. Zeiss Oculair 4 en Objectief D, (vergrooing 385)

laten zich de verschijnselen, waar het om gaat, zeer goed waarnemen. De te verrichten waarnemingen zijn van drieërlei aard: men heeft te letten op het al of niet gekleurd zijn der cellen (in den regel worden door het trypaanblauw in de genoemde concentratie de cellen diffuus, dus niet enkel de kernen, gekleurd); op de intensiteit der kleuring; op het aantal en den aard (grootte) der cellen. Wat de kleurstofopname betreft, vindt men de cellen in de sedimenten der rauwe melk ongekleurd, slechts nu en dan vindt men daartusschen een enkele cel, die een zwak tintje heeft aangenomen. De ongekleurde cellen komen — en dit geldt vooral bij gebruik van physiologisch keukenzout als oplosmiddel van de kleurstof — duidelijk uit op een ondergrond, die in den regel een zwakken tint heeft aangenomen. Men hoede zich voor verwisseling van de cellen met schuimvliesjes (die men meermalen in de preparaten aantreft) en vetbolletjes. Verwisseling met vetbolletjes is trouwens nauwelijks mogelijk, censdeels omdat deze zich in de preparaten in den regel veel kleiner voordoen dan de cellen en hun voorkomen, in verband met de lichtbreking, een andere is, en anderdeels omdat de vetbolletjes veelal naar boven zijn gestegen, terwijl de cellen zijn bezonken in de preparaten. Opgemerkt zij nog, dat men talrijke cellen aantreft, waarin vetbolletjes zijn ingesloten.

Uitkomsten van proefneming.

In de preparaten, vervaardigd van de sedimenten der melk, die betrekkelijk hoog of zeer hoog, bijv. 10 minuten op 70° C., 2 à 3 minuten op 80° C., 1 à 2 minuten op 90—100° C. is verhit geworden, vindt men alle cellen intensief gekleurd, op een lichten ondergrond. In de preparaten, vervaardigd van melk, die op 63° C. gedurende een half uur is verhit geworden, vindt men de cellen zwak gekleurd, dus belangrijk minder intensief dan in de zoo juist genoemde gevallen. Zwakke kleuring vindt men echter ook reeds in de preparaten, die vervaardigd zijn van melk, die slechts 10 minuten op 63° C. is verhit geworden, terwijl verhitte der melk op 60° C., ja zelfs op 55° C. gedurende een half uur, de cellen reeds een lichte tint doet aannemen. In de preparaten van het sediment van een mengsel van (hoog) verhitte melk en rauwe, treft men naast intensief gekleurde, ongekleurde cellen (van het grootere type) aan.

Wat het aantal der gesedimenteerde cellen betreft, zij het volgende opgemerkt. In de eerste plaats is het opmerkelijk, dat de sedimenten op zichzelf des te volumineuser zijn, naarmate de melk hooger is verhit geworden. Men zou nu à priori verwachten, dat in de van deze onderscheidene sedimenten vervaardigde mikroskopische preparaten het aantal cellen ten naastebij even groot zou zijn. Dit is echter merkwaardigerwijze niet het geval; het aantal cellen is, ceteris paribus, in de van de onderscheidene sedimenten vervaardigde preparaten des te grooter, naarmate de melk hooger is verhit geworden. Daaruit volgt, dat de sedimenten der

rauwe, resp. betrekkelijk laagverhitte, melk andere bestanddeelen dan cellen in grootere hoeveelheid moeten bevatten dan de sedimenten der hooger verhitte melk. In de sedimenten der normale melk — en daarvan is hier enkel sprake — vindt men nu, behalve de ons bezighoudende cellen, die tot nader order eenvoudigheidshalve onder den verzamelnaam leukocyten kunnen worden gebracht —, vetbolletjes, schuimvliesjes¹⁾ en nu en dan plaat-epitheelcellen en voorts kaasstofdeeltjes. Wat de vetbolletjes, schuimvliesjes en plaatepitheelcellen betreft, vindt men in den regel in de preparaten der onderscheidene sedimenten geen opmerkelijke verschillen, wat hun quantiteit aangaat.

Blijft dus over, dat het vooral de kaasstofdeeltjes moeten zijn, die het leeuwenandeel nemen aan de samenstelling van de sedimenten der rauwe, resp. laag verhitte, melk, in tegenstelling met de sedimenten der hooger verhitte melk, waarvan de onderhavige cellen het hoofdbestanddeel vormen. Het feit, dat in de sedimenten der rauwe (resp. laag verhitte) melk, absoluut en relatief zooveel minder cellen worden aangetroffen dan in die der hooger verhitte, kan, voorzoover ik zie, drieërlei oorzaak hebben: of er gaan tijdens het centrifugeeren der rauwe (en, zij het in mindere mate, ook bij de laag verhitte) melk, een groot aantal cellen ten gronde, of er blijven daarbij veel meer cellen in de ondermelk zweven, of er gaan meer cellen in den room over dan bij de verhitte melk, of wel meer dan één dezer oorzaken doet zich tegelijkertijd in meerdere of mindere mate gelden. Door nader onderzoek zal moeten worden uitgemaakt, hoe de vork in deze in den steel zit; waarbij intusschen reeds nu vermeld zij, dat voorloopige proefnemingen er op wijzen, dat in den room der rauwe melk meer cellen overgaan, dan in den room der (hoog) verhitte melk. In dit verband zal tevens de vraag onder de oogen moeten worden gezien, waarom in de sedimenten der rauwe melk bijna uitsluitend cellen van het grootere type worden aangetroffen. Dat dit verschijnsel niet daarop berust, dat men hier met niet ingekrompen cellen zou kunnen hebben te doen, in tegenstelling met de cellen der verhitte melk, volgt reeds daaruit, dat hetzelfde celtype eveneens wordt gevonden in de sedimenten der laag en hoog verhitte melk, welk type hier echter, in het bijzonder bij hooge verhitting, in verhouding tot de cellen van kleiner type op den achtergrond treedt. Het is mogelijk, dat juist de cellen van het grootere type het gemakkelijkst sedimenteeren, van wege hun wellicht grootere zwaarte, ofschoon hierbij niet, uit het oog mag worden verloren, dat het juist vooral deze cellen zijn, waarin veelal vetdruppeltjes voorkomen. Een andere mogelijkheid is deze, dat de cellen van het kleinere type meer kleverig zijn, dan die van het grootere type, zoodat de eerste gemakkelijker met de vetbolletjesaggregaten mee naar boven worden getrokken dan de

¹⁾ Voor „schuimvliesjes” zie men: Verslagen landbouwkundige onderzoekingen XXVIII, blz. 46 (1923).

laatste, terwijl deze eigenschap van kleverigheid verloren gaat bij verhitting en wel in des te sterkere mate, naarmate de melk hooger is verhit geworden. Intusschen zal ook in dezen slechts nader onderzoek, waarin uit den aard der zaak de determinceering der onderscheidene in de melk voorkomende celtypen moet worden betrokken, uitsluitsel kunnen geven¹⁾.

In de tabellen I, II, III en IV vindt men enkele resultaten van vorenstaand bedoelde proefnemingen samengesteld.

Tabel I.

Rauwe en op verschillende temperaturen verhitte melk.

Serienummer.	Kleurstof: trypaan-blauw. Oplosmiddel:	Proefnummer.	Duur en temperatuur van verhitting der melk	Gemiddeld aantal cellen per gezichtsveld in de preparaten van de sedimenten der melk (25 velden geteld).			Opmerkingen.
				onge- kleurd.	zwak ge- kleurd	intensief gekleurd.	
I	aq. dest.	1	onverhit.	3	—	—	
		2	30 minuten op 60° C.	—	40	—	
		3	30 minuten op 63° C.	—	45	—	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
		5	1 minuut op 100° C.	—	—	meer dan 100	
II	aq. dest.	1	onverhit.	10	—	—	
		2	30 minuten op 60° C.	—	30	—	
		3	30 minuten op 63° C.	—	33	—	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
III	aq. dest.	1	onverhit.	7	—	—	
		2	30 minuten op 55° C.	—	20	—	
		3	30 minuten op 60° C.	—	38	—	
		4	30 minuten op 63° C.	—	42	—	
		5	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
IV	aq. dest.	1	onverhit.	3	—	—	
		2	30 minuten op 55° C.	—	18	—	
		3	30 minuten op 63° C.	—	20	—	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
Va	aq. dest.	1	onverhit.	5	—	—	
		2	30 minuten op 37° C.	8	—	—	
		3	30 minuten op 63° C.	—	30	—	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
Vb	0,9 pct NaCl	1	onverhit.	12	—	—	
		2	30 minuten op 37° C.	14	—	—	
		3	30 minuten op 63° C.	—	25	—	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	

¹⁾ Uit een en ander volgt tevens dat het onderzoek op het cellen-gehalte der melk, zooals dat wel pleegt te geschieden door mikroskopisch onderzoek van het, b.v. met behulp van de buisjes van TROMMSDORFF verkregen sediment, geenszins als een deugdelijke maatstaf kan worden beschouwd van het cellen-gehalte der geheele melk. Een iets betere maatstaf voor praktische doeleinden zou ongetwijfeld kunnen worden verkregen door de melk vóór het centrifugeeren op een bepaalde temperatuur (b.v. 2 minuten op 85° C.) te verhitten.

Serienummer.	Kleurstof: trypaan-blauw. Oplosmiddel:	Proefnummer.	Duur en temperatuur van verhitting der melk.	Gemiddeld aantal cellen per gezichtsveld in de preparaten van de sedimenten der melk (25 velden geteld).			Opmerkingen.
				ongekleurd.	zwak gekleurd.	intensief gekleurd.	
VIa	aq. dest.	1	onverhit.	7	—	—	De voor deze proefgebruikte melk was 2 da- gen in de ijs- kast bewaard gebleven.
		2	30 minuten op 60° C.	—	30	—	
		3	3 minuten op 85° C.	—	—	75	
VIb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	25	—	—	
		2	30 minuten op 60° C.	—	28	—	
		3	3 minuten op 85° C.	—	—	90	
VII	aq. dest.	1	onverhit.	52	—	—	
		2	30 minuten op 60° C.	—	55	—	
		3	3 minuten op 80° C.	—	—	meer dan 100	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
VIIIa	aq. dest.	1	onverhit.	10	—	—	
		2	30 minuten op 62° C.	—	25	—	
		3	3 minuten op 80° C.	—	—	95	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
VIIIb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	21	—	—	
		2	30 minuten op 62° C.	—	29	—	
		3	3 minuten op 80° C.	—	—	55	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	70	
IX	aq. dest.	1	onverhit.	20	—	—	
		2	30 minuten op 62° C.	—	32	—	
		3	10 minuten op 75° C.	—	—	65	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	70	
X	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	10	—	—	
		2	30 minuten op 62° C.	—	30	—	
		3	10 minuten op 70° C.	—	—	75	
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	80	

Tabel II.

Rauwe en op 60°—64° C. verhitte melk.

Ia	aq. dest.	1	onverhit.	12	—	—
		2	30 minuten op 62° C.	—	40	—
		3	30 minuten op 64° C.	—	45	—
Ib	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	20	—	—
		2	30 minuten op 62° C.	—	31	—
		3	30 minuten op 64° C.	—	42	—
IIa	aq. dest.	1	onverhit.	11	—	—
		2	30 minuten op 62° C.	—	31	—
		3	30 minuten op 63° C.	—	30	—
		4	30 minuten op 64° C.	—	40	—
IIb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	11	—	—
		2	30 minuten op 62° C.	—	26	—
		3	30 minuten op 63° C.	—	20	—
		4	30 minuten op 64° C.	—	21	—
IIIa	aq. dest.	1	onverhit.	12	—	—
		2	30 minuten op 62° C.	—	25	—
		3	30 minuten op 64° C.	—	25	—
		4	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100

Seriesnummer.	Kleurstof: trypaan-blauw. Oplosmiddel:	Proefnummer.	Duur en temperatuur van verhitting der melk	Gemiddeld aantal cellen per gezichtsveld in de preparaten van de sedimenten der melk (25 velden geteld).			Opmerkingen.
				ongekleurd.	zwak gekleurd.	intensief gekleurd.	
IIIb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit	16	—	—	meer dan 100
		2	30 minuten op 620 C.	—	22	—	
		3	30 minuten op 640 C.	—	24	—	
		4	2 minuten op 950 C.	—	—	—	
IV	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	7	—	—	
		2	30 minuten op 600 C.	—	25	—	
		3	30 minuten op 620 C.	—	30	—	
		4	30 minuten op 640 C.	—	34	—	
V	0,9 pct. NaCl	1	onverhit	30	—	—	Dezelfde melk als IV echter 24 uur in de ijskast be- waard.
		2	30 minuten op 600 C.	—	20	—	
		3	30 minuten op 620 C.	—	20	—	
		4	30 minuten op 640 C.	—	25	—	

Tabel III.

Rauwe en gedurende 10, 20 en 30 minuten op 63° C. verhitte melk.

I	0,9 pct NaCl	1	onverhit.	15	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	20	—	
		3	20 minuten op 630 C.	—	30	—	
		4	30 minuten op 630 C.	—	30	—	
II	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	22	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	34	—	
		3	20 minuten op 630 C.	—	47	—	
		4	30 minuten op 630 C.	—	26	—	
IIIa	aq. dest.	1	onverhit.	14	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	37	—	
		3	20 minuten op 630 C.	—	46	—	
		4	30 minuten op 630 C.	—	35	—	
IIIb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	33	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	30	—	
		3	20 minuten op 630 C.	—	30	—	
		4	30 minuten op 630 C.	—	28	—	
IVa	aq. dest.	1	onverhit.	27	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	39	—	
		3	20 minuten op 630 C.	—	28	—	
		4	30 minuten op 630 C.	—	20	—	
IVb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	28	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	48	—	
		3	20 minuten op 630 C.	—	27	—	
		4	30 minuten op 630 C.	—	25	—	
Va	aq. dest.	1	onverhit.	14	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	38	—	
		3	30 minuten op 630 C.	—	31	—	
		4	2 minuten op 850 C.	—	—	85	
Vb	0,9 pct NaCl	1	onverhit.	30	—	—	
		2	10 minuten op 630 C.	—	31	—	
		3	30 minuten op 630 C.	—	24	—	
		4	2 minuten op 850 C.	—	—	86	

Tabel IV.

Mengsel van rauwe en verhitte melk.

Contrôle: Rauwe en verhitte melk afzonderlijk.

Serienummer.	Kleurstof: trypaan-blauw. Oplosmiddel:	Proefnummer.	Duur en temperatuur van verhitting.	Gemiddeld aantal cellen per gezichtsveld van 25 velden			Opmerkingen.
				onge- kleurd.	zwak ge- kleurd	intensief gekleurd.	
Ia	aq. dest.	1	onverhit.	5	—	—	
		2	30 minuten op 63° C.	—	28	—	
		3	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
		4	mengsel: onverhit + 2 minuten op 95° C. } \bar{a}	3	—	60	
Ib	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	20	—	—	
		2	30 minuten op 63° C.	—	29	—	
		3	2 minuten op 95° C.	—	—	meer dan 100	
		4	mengsel: onverhit + 2 minuten op 95° C. } \bar{a}	15	—	55	
IIa	aq. dest.	1	onverhit.	8	—	—	
		2	3 minuten op 80° C.	—	—	90	
		3	mengsel: onverhit + 3 minuten op 80° C. } \bar{a}	3	—	35	
IIb	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	26	—	—	
		2	3 minuten op 80° C.	—	—	65	
		3	mengsel: onverhit + 3 minuten op 80° C. } \bar{a}	10	—	16	
III	aq. dest.	1	onverhit.	5	—	—	
		2	2 minuten op 95° C.	—	—	92	
		3	mengsel: onverhit + 2 minuten op 95° C. } \bar{a}	2	—	50	
IV	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	16	—	—	
		2	10 minuten op 10° C.	—	—	91	
		3	mengsel: onverhit + 10 minuten op 80° C. } \bar{a}	2	—	37	
V	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	24	—	—	
		2	10 minuten op 80° C.	—	—	85	
		3	mengsel: onverhit + 10 minuten op 80° C. } \bar{a}	3	—	26	
VI	0,9 pct. NaCl	1	onverhit.	8	—	—	
		2	10 minuten op 80° C.	—	—	92	
		3	mengsel: onverhit + 10 minuten op 80° C. } \bar{a}	4	—	24	

Resumeeerende staan ons dus bij toepassing van vorenstaand aangegeven methode drie hulpmiddelen ter beschikking, die ons, in combinatie, een oordeel kunnen verschaffen omtrent de vraag of eenigerlei melk verhit is geweest, ja dan neen, en of gepasteuriseerde melk met rauwe melk vermengd is geworden.

Bedoelde kenmerken zijn:

1. Het ongekleurd zijn van de gesedimenteerde cellen der rauwe melk (sporadisch mag een enkele licht gekleurde cel worden aangetroffen); het zwak gekleurd zijn van de gesedimenteerde cellen der laag (bijv. 10—30 min. op 63° C.) verhitte melk; het intensief gekleurd zijn van de gesedimenteerde cellen der hoog (bijv. 10 min. op 70° C., 2 à 3 min. op 80—90° C., 1 à 2 min. op 90—100° C.) verhitte melk; het voorkomen van ongekleurde naast intensief gekleurde gesedimenteerde cellen in hoog verhitte melk, die met rauwe, of omgekeerd, is vermengd geworden.
2. De betrekkelijke grootte der gesedimenteerde cellen der rauwe melk.
3. Het voorkomen van weinig (ongekleurde) cellen in het sediment der rauwe melk en van een groot aantal (gekleurde) cellen in de verhitte melk, tot op zekere hoogte stijgende met de temperatuur en den duur van verhitting.

Bij het nauwkeurig in acht nemen van de eerdergenoemde voorschriften, wat de uitvoering der methode betreft, is men derhalve in staat om te kunnen beoordeelen: of eenigerlei normale melk op een hogere temperatuur is verhit geworden, in welk geval men in de mikroskopische preparaten der sedimenten een groot aantal intensief gekleurde cellen aantreft; of eenigerlei normale melk, na bij hogere temperatuur (zie boven) gepasteuriseerd te zijn, met rauwe melk, of omgekeerd, is vermengd geworden, in welk geval men in de preparaten der sedimenten intensief gekleurde cellen naast ongekleurde (grootere) cellen aantreft; of eenigerlei melk op betrekkelijk lage temperatuur (bijv. 10—30 min. op 63° C.) is verhit geworden, in welk geval men in de sedimenten een vrij groot aantal licht gekleurde cellen vindt; of de melk rauw is, in welk geval men in de sedimenten slechts ongekleurde (grootere) cellen aantreft, behoudens eventueel sporadisch enkele cellen, die een zwak tintje hebben aangenomen.

Geen uitsluitsel geeft het volgen der methode daarentegen omtrent de vraag of eenigerlei melk gedurende een half uur op 63° C. verhit resp. „gepasteuriseerd” is geworden (en hetzelfde geldt voor een door FROST ¹⁾ aangegeven methode) omdat de verschijnselen, die de cellen vertoonen, ook reeds optreden bij een verhitting der melk, gedurende 10 min., op 63° C.

¹⁾ W. D. FROST. Journal of American medic. assoc. 44, 821 (1915).

Studies in Science. Univ. of Wisconsin. Number 2, 151 (1921)

Daarentegen kan de beschreven histologische methode ook goede diensten bewijzen, in de gevallen, waarin de reactie van STORCH ons in den steek laat, wat het geval kan zijn, wanneer de melk bepaalde conserveermiddelen, bijv. kalium bichromaat of formol bevat. Dit moge blijken uit de in tabel V samengestelde uitkomsten van proefnemingen. De uitslag der fermentreacties (STORCH en ROTHENFUSSER) is in deze tabel eenvoudigheidshalve aangegeven door kruisjes. Vier kruisjes stellen voor de in versche normale melk gevonden sterkte der fermentreacties; een sterkere reactie is aangegeven door vijf kruisjes, een zwakkere, afdalend, door drie, twee of één kruisje, terwijl voor een negatieve reactie het teeken — is genomen.

Tabel V.

Kalium bichromaat bevattende rauwe en verhitte melk.

Contrôle: Rauwe en verhitte melk zonder toevoeging.

In alle seriën is proefnummer 1 = rauwe melk; 2 = rauwe melk + 0,005 pct. kalium bichromaat; 3 = 10 minuten op 80° C. verhitte melk en 4 = 3 + 0,005 pct. kalium bichromaat. Als oplosmiddel voor het trypaanblauw is in alle seriën 0,9 pct. NaCl gebruikt.

Seriënummer.	Proefnummer.	STORCH.	ROTHEN- FUSSER.	Gemiddeld aantal cellen per gezichtsveld van 25 velden.		Ouderdom der melk.
				ongekleurd.	gekleurd.	
I.	1	++++	++++	18	—	versch.
	2	+++++	+++++	32	—	
	3	—	—	—	88	
	4	+++	++++	—	120	
II.	1	++++	++++	23	—	versch.
	2	+++++	+++++	29	—	
	3	—	—	—	105	
	4	+++	++++	—	164	
III.	1	++++	++++	28	—	24 uur oud (koel bewaard).
	2	+++++	+++++	27	—	
	3	+	+	—	123	
	4	+++	++++	—	126	
IV.	1	++++	++++	24	—	versch.
	2	+++++	+++++	34	—	
	3	—	—	—	105	
	4	+++	++++	—	131	
V.	1	++++	++++	28	—	versch.
	2	+++++	+++++	30	—	
	3	—	—	—	119	
	4	+++	++++	—	158	
VI.	1	++++	++++	14	—	versch.
	2	+++++	+++++	25	—	
	3	+	+	—	78	
	4	+++	++++	—	98	

Serienummer.	Proefnummer.	STORCH.	ROTHEN— FUSSER.	Gemiddeld aantal cellen per gezichtsveld van 25 velden.		Ouderdom der melk.
				ongekleurd.	gekleurd.	
VII.	1	++++	++++	21	—	versch.
	2	++++	++++	20	—	
	3	++++	++++	—	164	
	4	++++	+++	—	126	
VIII.	1	++++	++++	7	—	versch.
	2	+++++	+++++	10	—	
	3	++++	++++	—	91	
	4	++++	++++	—	100	
IX.	1	++++	++++	17	—	versch.
	2	+++++	+++++	19	—	
	3	++++	++++	—	96	
	4	++++	++++	—	138	
X.	1	++++	++++	12	—	versch.
	2	+++++	+++++	20	—	
	3	++++	++++	—	95	
	4	++++	++++	—	121	
XI.	1	++++	++++	33	—	3 dagen oud (ijskast).
	2	+++++	+++++	42	—	
	3	++++	++++	—	144	
	4	++++	++++	—	135	
XII.	1	+++++	+++++	54 ¹⁾	—	6 dagen oud (ijskast).
	2	+++++	+++++	38 ¹⁾	—	
	3	++++	++++	—	205	
	4	++++	++++	—	129	

Ein neues Verfahren zur Unterscheidung von rauher und erhitzter Milch.

(Kurze Zusammenfassung.)

Die zu prüfende Milch wird durch Watte filtriert und dann mit einem gleichen Teile einer Lösung von 0,1—0,2 pct. (praktisch kann man 0,15 pct. verwenden) Trypanblau in destilliertem Wasser oder (besser) in physiologischer Kochsalzlösung, versetzt. Es genügen 5 c.c. Milch und 5 c.c. der Farbstofflösung, die, nach gehöriger Mischung, in einem Centrifugenröhrchen, etwa mit graduiertem Kapillarteil, z.B. ein TROMMSDORFFSches Röhrchen, während 10 Minuten bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen werden. Nach dieser Zeit wird während 20 Minuten centrifugiert. Sodann wird die gebildete Rahmschicht und die Zwischenschicht (Magermilch) entfernt. Die in dem kapillaren Teil des Röhrchens zurückgebliebene kleine Flüssigkeitsmenge wird mit einer sehr feinen Kapillarpipette abgesaugt, bis auf das Sediment. Das Sediment wird, mit Hilfe einer feinen Kapillarpipette, so gleichmäßig wie möglich gemischt, was unbedingt notwendig ist, weil die ver-

¹⁾ De cellen zijn voor het meerendeel zwak getint.

schiedenen Schichten des Sediments Zellelemente in verschiedener Anzahl enthalten. Von dem feuchten Sedimente werden Tröpfchen (die bei allen Proben stets möglichst ganz gleich genommen werden sollen) zu der Anfertigung von mikrosk. Präparaten verwendet, indem dafür Sorge getragen wird, dass das Material sich möglichst gleichmässig zwischen Object- und Deckglas ausbreitet. Damit sind die Präparate für die mikrosk. Untersuchungen fertig; das Material wird somit im feuchten und nicht im lufttrocknen Zustande untersucht. Wenn erwünscht kann man anstatt der erwähnten Herstellungsweise der Präparate, Zählkammer benutzen; für praktischen Zwecke ist dies jedoch überflüssig; auch die Benutzung eines Immersionssystems ist nicht notwendig; es genügt ein Trockensystem, nur soll immer mit derselben Vergrösserung gearbeitet werden, falls kein Zählkammer oder Ocularquadratmicrometer benutzt wird. Bei der Studierung der mikrosk. Präparate hat man zu achten: auf das ungefärbt oder gefärbt sein der Zellen und auf die Intensität der Färbung; auf Zahl und Grösze der vorhandenen Zellen. Die Anzahl der Zellen in den Präparaten kann in der Weise bestimmt werden, dass man eine grözere Zahl z.B. 25 von Gesichtsfeldern durchmusterst und die Gesamtzahl der gezählten Zellen dividirt durch die Zahl der durchmustersten Feldern, sodass man eine Mittelzahl an Zellen pro Gesichtfeld erhält.

Vor Verwechslung der Zellen mit Schaumhäutchen und Fettkügelchen soll man sich hüten.

Es lässt sich bei genauer Innehaltung der erwähnten Vorschriften beurteilen:

Ob irgend eine Milch roh ist, in welchem Fall man in den Präparaten nur ungefärbte (verhältnismässig grözere) Zellen vorfindet; ob eine Milch hoch (z.B. 10 Minuten auf 70° C., 2 à 3 Minuten auf 80—90° C., 1 à 2 Minuten auf 90—100° C.) erhitzt werden ist, in welchem Falle man eine grözere Anzahl von intensiv gefärbten Zellen antrifft, während ungefärbte und schwach gefärbte fehlen; *ob ein Gemisch von hoch erhitzter und roher Milch vorliegt, in welchem Falle nebst zahlreicher intensiv gefärbten Zellen, ungefärbte (sich gross ausnehmende) Zellen zur Beobachtung gelangen*; ob eine Milch auf eine niedrige Temperatur (z.B. 10—30 Minuten auf 63° C.) erhitzt worden ist, in welchem Falle man eine mässige Anzahl schwach gefärbte Zellen wahrnehmen kann. Ueber die Frage ob eine Milch richtig während ½ Stunde auf 63° C. pasteurisiert worden ist, gibt die Methode kein Aufschluss, ebenso wenig wie die von W. D. FROST, obwohl von diesem Autor das Gegenteil behauptet worden ist.

Uebrigens hat die beschriebene Methode ebenfalls Geltung für diejenige Fällen, in welchen die Milch mit bestimmten Conservir-mitteln (z.B. Kaliumbichromat oder Formol) versetzt worden ist, in welchem Fall bekanntlich die Storchsche Fermentreaction im Stiche lassen kann.