

RIJKSLANDBOUWPROEFSTATION HOORN.

DISPERSITEITSMETINGEN VAN HET VET IN MELK
EN KARNEMELK,

DOOR

H. A. SIRKS.

(Ingezonden 29 December 1934.)

Nadat door het onderzoek van KING ¹⁾ waarschijnlijk was gemaakt, dat bij het karnen van room een deel van het vet in den vorm van „boterolie” uit de vetbolletjes treedt en in de karnemelk overgaat, werd dit door twee onderzoekingen ²⁾ van den laatsten tijd, aan dit Proefstation verricht, bevestigd en aangetoond, dat dit in zoo sterke mate het geval was, dat een belangrijk deel van het karnemelkvet van dit uitgetreden vet afkomstig bleek te zijn.

Bij de laatste der genoemde onderzoekingen was ook de vraag gerezen, hoe het met de dispersiteit van dit eigenaardig samengestelde karnemelkvet was gesteld en toen een physisch onderzoek daarnaar onverwachte en aanvankelijk onverklaarbare resultaten opleverde, werd het wenschelijk geoordeeld, ook langs microscopischen weg iets over de dispersiteit der karnemelkvetbolletjes te weten te komen.

Daar ik nu juist in dien tijd begonnen was met het zoeken naar een methode om de bijdrage der groote en zeer groote vetbolletjes tot het karnemelkvet te kunnen bepalen, werden bovengenoemde gewenschte metingen over de dispersiteit in mijn onderzoek opgenomen, waarvoor dit over de vetbolletjes van alle afmetingen werd uitgebreid.

Bij een vroeger onderzoek over de factoren, die de spontane oprooming beïnvloeden, werd ook de grootte der in de melk voorkomende vetbolletjes en de frequentie der verschillende grootte-klassen nagegaan. De hiervoor uitgewerkte methode ³⁾ werd later door RAHN en zijn medewerkers, bij hun onderzoekingen ⁴⁾ over de verdeeling van het vet in melk, room en karnemelk,

¹⁾ *Milchwirt. Forsch.*, 12, 513 (1932).

²⁾ W. VAN DAM, Karn- en kneedproeven. *Off. Org. v. d. Alg. Ned. Zuivelbond*, 1932, Nos. 42—50.

W. VAN DAM en B. J. HOLWERDA, *Versl. van landbk. Onderz. der R. L. Proefst.*, 1934, n°. 40 C, blz. 175.

³⁾ W. VAN DAM en H. A. SIRKS, *Versl. v. landbk. Onderz.*, 26, 126 (1922).

⁴⁾ O. RAHN, *Milchw. Forsch.*, 2, 383 (1925).

H. H. WEIGMANN, *Milchw. Forsch.*, 4, 259 (1927).

Zie ook: A. SCHNECK en G. KOHLHARDT, *ibidem* 9, 186 (1930).

eenigszins gewijzigd en uitgebreid overgenomen. Zij overwogen daarbij terecht, dat de relatieve bijdragen aan vet van elke grootte-klasse der vetbolletjes tot het totaal vetgehalte in vele gevallen van meer practisch belang is, dan enkel de verdeling van het aantal over de verschillende klassen. Toen zij deze methode gingen toepassen op room en karnemelk, waar in tegenstelling met hetgeen gewoonlijk bij melk wordt gevonden, ook nog vetbolletjes grooter dan $10\ \mu$ worden aangetroffen, bleek dat het tellen en meten van in totaal 600 vetbolletjes, waarmede bij melk doorgaans kan worden volstaan, nu feitelijk niet meer voldoende was, omdat dan al te weinig vetbolletjes in de grootere klassen tusschen 10 en $20\ \mu$ en hoger worden geteld, om een voldoende nauwkeurig resultaat te verkrijgen.

Zoo bleek uit de cijfers, door RAHN bij de telling en meting van 600 vetbolletjes in room verkregen, dat de 2 daarbij gevonden vetbolletjes van $11-12\ \mu$, hoewel in *aantal* slechts 0,33% van het totaal uitmakende, met hun *vetgewicht* voor $\pm 8\ \%$ bijdroegen tot het totaal vet der 600 vetbolletjes, en dat het vet van het ééne bolletje van $17-18\ \mu$, dat onder de 600 werd aangetroffen, nog bijna 14 % van het totaal vetgewicht uitmaakte. Het toevallig vinden van één zoo'n groot vetbolletje meer of minder geeft dus al een aanzienlijk verschil in de uitkomst.

Ook bij de karnemelk komen groote en zelfs zeer groote vetbolletjes of -kluitjes voor, wier invloed op het vetgehalte dus zal moeten worden nagegaan, zoodat het noodig zal zijn, de tot nog toe gebruikelijke methode te wijzigen.

We kunnen hierbij niet volstaan met eenvoudig het in een praeparaat te meten aantal vetbolletjes belangrijk uit te breiden, want, zooals uit het vervolg zal blijken, zouden we dan bij karnemelk wel een millioen vetbolletjes moeten meten, wanneer we bijv. 10 of meer vetbolletjes van $\pm 30\ \mu$ onder het getelde aantal zouden willen aantreffen.

Veel beter zou een methode zijn, waarbij, in verschillende praeparaten met toenemende hoeveelheden karnemelk, de bijdrage van elke grootte-klasse der vetbolletjes tot het karnemelkvet geheel onafhankelijk van die der overige klassen bepaald zou kunnen worden, door telkens voor een groep van eenige grootte-klassen in een nauwkeurig bekend volume karnemelk te onderzoeken, hoeveel vetbolletjes van elke klasse in dat volume aanwezig waren. Uit deze waarnemingen, zou dan berekend kunnen worden, hoeveel mg vet door elke klasse afzonderlijk wordt bijgedragen tot het aantal mg vet, dat volgens een gedane Gerber-bepaling in de telkens onderzochte bekende hoeveelheid karnemelk aanwezig is. Tenslotte kan dan worden nagegaan, in hoeverre de som der gevonden vethoeveelheden van alle grootte-klassen, elk uitgedrukt in procenten van het berekende gewicht aan Gerber-vet der onderzochte

karnemelk, de 100 % zou naderen. Wanneer daaraan nog veel ontbrak, zou dit aanleiding kunnen geven het onderzoek over nog grootere vetbolletjes en aggregaten daarvan uit te breiden.

Ook bij melk, waarin slechts een beperkt aantal grootte-klassen van vetbolletjes voorkomen, zou het groepsgewijs onderzoek in bekende volumina op deze wijze niet alleen nauwkeuriger resultaten geven, doordat ook van de grootere vetbolletjes dan bijv. $6\ \mu$ nog een behoorlijk aantal zouden worden aangetroffen, maar ook zou men, in het al of niet benaderen van de genoemde 100 % vet een welkome contrôle bezitten op de nauwkeurigheid der vele metingen en berekeningen.

In hoeverre is dit nu practisch te verwezenlijken?

De vergrooting van het microscoop kan worden geregeld naar de afmetingen der te meten vetbolletjes; de sterkste moet zoodanig zijn, dat de vetbolletjes kleiner dan $1\ \mu$ nog goed te onderscheiden zijn van de grootere; verder moet men hierbij ook rekening houden met de verdeling van den beschikbaren oculairmicrometer, daar de berekening zeer vereenvoudigd wordt, wanneer men de afmetingen der kleinste verdelingen laat beantwoorden aan een geheel aantal μ 's.

Waar het zeer op aan komt, is de keuze van een goeden oculairmicrometer. De meest geschikte zou wellicht een zoodanige zijn, waarop een verdeling was aangebracht in vierkantjes, waarvan het oppervlak met $1\ \mu^2$ van het praeparaat overeenkwam bij de voor de kleinste vetbolletjes gebruikte vergrooting. Het is echter de vraag, of zulk een fijne verdeling wel te verwezenlijken is, waarbij de zijden van genoemde vierkantjes, op den oculairmicrometer-aangebracht, ongeveer 0,05 mm lang zouden moeten zijn.

Aanvankelijk beschikte ik slechts over een micrometer, voorzien van een vierkant van 5 bij 5 mm, dat in 100 vierkantjes was verdeeld, wier zijden bij de sterkste vergrooting met $10\ \mu$ van het praeparaat overeenkwamen. Later kon ik werken met een dergelijk vierkantje van $25\ \text{mm}^2$, in 400 kleinere verdeeld, zoodat nu 1 zijde daarvan aan $5\ \mu$ beantwoordde. Eindelijk gelukte het nog een oculairmicrometer te laten maken, waarop een rechthoek, verdeeld in 2 vierkanten, voorkwam, elk met een zijde van 2,5 mm en beide verdeeld in 25 vierkantjes, welke ieder weer door nog fijnere lijntjes in 25 vierkantjes waren onderverdeeld, zoodat de zijden daarvan dus 0,1 mm lang waren.

Met de voor de kleinste vetbolletjes gebruikte vergrooting kwamen deze zijden overeen met $2\ \mu$, terwijl het nog goed mogelijk was afmetingen van $1\ \mu$ te schatten.

Met behulp van dezen laatsten oculairmicrometer bleek het mogelijk, de gewenschte methode, waarbij in bekende volumina de bijdrage van elke grootte-klasse tot het melk- of karnemelkvet, onafhankelijk van de andere klassen,

langs directen weg wordt bepaald, volledig in toepassing te brengen (zie Hoofdstuk III). Met de andere twee oculairmicrometers was dit voor de grootere wel, maar voor de kleinste vetbolletjes niet of slechts bezwaarlijk uitvoerbaar en moest de meting daarvan op andere wijze en de berekening van hun vetbijdrage langs een omweg geschieden, zooals uit het volgende zal blijken.

I. Dispersiteitsmetingen met behulp van den in 100 vierkantjes verdeelden oculairmicrometer.

Onderzocht werd de karnemelk I van gezuurden room, gekarnd in de boterfabriek der Proefzuivelboerderij. De room was afkomstig van gemengde stal-melk. De karnemelk had een soortelijk gewicht van 1,0288 bij 15° en bevatte 0,51 % vet, volgens GERBER bepaald.

Daar, bij sterke vergrooting bekeken, de karnemelk veel meer vetb. van 0—1 μ bleek te bevatten dan van 1—2 μ , welke weer veel talrijker waren dan die van 2—3 μ , werden als eerste groep slechts de vetbolletjes der grootteklasse 0—1 μ en 1—2 μ onderzocht.

Een geschikte vergrooting bleek daarbij te zijn: Obj. D, Ocul. K 18, tub. lengte 18,7, waarmee 1 zijde van elk der 100 vierkantjes van den oc.micro-meter beantwoordde aan 10 μ . Het bleek nu niet mogelijk om de vetbolletjes van 0—1 μ , 1—2 μ enz. met dezen maatstaf van 10 μ , waarvan dus tiende deelen geschat moeten worden, met voldoende nauwkeurigheid van elkaar te onderscheiden; voor de grootere klassen van 5 μ af ging dit beter. Daarom werd voor de meting der vetbolletjes tot 5 μ een anderen iets langeren weg ingeslagen, waarbij van den, bij de vroegere onderzoekingen vermelden, oculairmicrometer met de in 50 deelen verdeelde lineaire schaal werd gebruik gemaakt, waarvan met deze vergrooting 1 schaaldeel 2 μ vertegenwoordigde.

De karnemelk werd, na nog eens door boterzeefgaas met ronde openingen van $\pm 0,7$ mm gegoten te zijn, voor dit onderzoek geschikt gemaakt door neutralisatie met 0,1 norm. loog en toevoeging van 1 cc 5 % trinitriumcitraat-oplossing per 10 cc karnemelk, waarna tot het 10-voudige karnemelk-volume werd verdund met een verwarmde en daarna snel afgekoelde oplossing van 1½ % gelatine en ½ % phenol.

Aanvankelijk werden de metingen verricht in een rond telkamertje van Zeiss met een diepte van juist 0,1 mm. Daar de bevestiging van het hierin voorkomende cirkelvormige plaatje niet bestand bleek tegen de gebruikte vloeistoffen, werd aan de instrumentmakerij van het Proefstation een aantal kamertjes vervaardigd, bestaande uit een 2 mm breed zilveren ringetje van $\pm 0,1$ en 0,2 mm dikte en 11 mm inwendigen diameter, hetwelk onder druk op een objectglas werd bevestigd met een zoo dun mogelijk laagje canadabal-

sem. Deze kamertjes waren zeer gemakkelijk schoon te maken en bleven vrij lang bruikbaar, mits ze niet met alcohol of aether in aanraking kwamen. Voor het onderzoek werden ze met een druppel der verdunde karnemelk gevuld en werd snel een dekglas opgelegd van ruim 0,2 mm dikte, dat aan de randen met een gesmolten mengsel van was en paraffine werd afgesloten, zoodat geen verdamping kon plaats hebben. Om de opstijging der vetbolletjes, ook van de allerkleinste, zoo volledig mogelijk te doen zijn, werd het telkamertje, zuiver horizontaal geplaatst, gedurende minstens een paar uren op 38—40° C. gehouden, waarbij de vetbolletjes tevens den voor de metingen gewenschten zuiver ronden vorm verkregen.

a. Meting der vetbolletjes van 0—1 μ en 1—2 μ .

Met behulp van den oc.micrometer met de in 50 deelen verdeelde lineaire schaal, waarvan bij de genoemde vergrooting 1 schaaldeel overeenkwam met 2 μ , werd bepaald hoeveel vetbolletjes van 0—1 μ en van 1—2 μ voorkwamen op minstens 1000 vetbolletjes, die men de schaalverdeeling liet passeeren, waarbij van de grootere vetbolletjes alleen die werden meegeteld, wier centra blijkbaar kwamen te liggen binnen het door de korte schaalverdeeling bepaalde oppervlak. De gezochte aantallen bedroegen resp. 828 en 133 per 1000. Voor de nu volgende berekening van het vet werden die aantallen genomen, die per 10⁹ vetb. zouden zijn gevonden, dus 828×10^6 van 0—1 μ en 133×10^6 van 1—2 μ . Bij aanname van een soortelijk gewicht van 0,93 voor het (meestal half vloeibare) vet der vetb., vinden we voor het totaal-vet der vetbolletjes van 0—1 μ 0,0504 mg en voor die van 1—2 μ 0,2186 mg, voor welke berekening telkens de gemiddelde diameter, dus resp. $\frac{1}{2} \mu$ en $1\frac{1}{2} \mu$ is gebruikt.

Hoeveel dragen elk van deze 2 klassen van vetbolletjes nu bij tot het totaal vet der karnemelk? Daarvoor zouden we moeten weten, in hoeveel mg karnemelk 10⁹ vetb. van alle afmetingen worden gevonden, hetgeen niet bekend is, maar door een vrij eenvoudig onderzoek is uit te maken. We behoeven daarvoor slechts in een nauwkeurig bekende hoeveelheid karnemelk te tellen hoeveel vetbolletjes (van alle afmetingen) daarin voorkomen, waarbij dus geen enkel vetbolletje gemeten behoeft te worden. Hetzelfde praeparaat van zooeven kan worden gebruikt, maar nu wordt onderzocht met den in vierkantjes verdeelden micrometer, waarvan elk veld van 100 vierkantjes overeenkomt met een oppervlak van $10^4 \mu^2$. In 20 van zulke velden werden nu op verschillende plaatsen van het kamertje te zamen 7701 vetbolletjes van alle afmetingen geteld. Daar de diepte der zilveren kamertjes niet nauwkeurig bekend was, werd deze op verschillende plaatsen bepaald, door meting van de schijnbare diepte d met behulp van de van een verdeeling voorziene micrometerschroef van het microscoop, door scherpe instelling eerst op uiterst kleine vetbolletjes,

gelegen aan den onderkant van het dekglas en daarna op bacteriën of andere op den bodem gelegen zeer kleine partikeltjes. Na nog de refractie n van de verdunde karnemelk te hebben bepaald, kon de ware diepte $D = n \times d$ van het kamertje vrij nauwkeurig, althans op enkele procenten na, worden gevonden, zooals door andere metingen in het kamertje van Zeiss, met nauwkeurig bekende diepte, kon worden vastgesteld. De gemiddelde schijnbare diepte bedroeg 105μ , de refractie 1,339; de gemiddelde ware diepte dus $140,6 \mu$.

De 7701 getelde vetbolletjes (van alle afmetingen) waren dus afkomstig van $20 \times 10^4 \times 140,6 = 2,812 \times 10^7 \mu^3$ der 10 maal verdunde, d. i. $0,002812 \text{ mm}^3$ of $0,002893 \text{ mg}$ onverdunde karnemelk.

Een tweede telling in een nieuwe hoeveelheid 10 maal verd. k.m. gaf 7483 vetb. in $0,002491 \text{ mg}$ k.m., te zamen dus 15184 vetb. in $0,005384 \text{ mg}$ k.m., zoodat de hoeveelheid k.m., waarin 10^9 vetb. van alle afmetingen voorkomen $\frac{10^9}{15184} \times 0,005384 \text{ mg} = 354,6 \text{ mg}$ bedraagt, hetgeen we wenschten te weten voor de beantwoording van de vraag, hoeveel de vetb. van $0-1 \mu$ en $1-2 \mu$ tot het vet der karnemelk bijdragen. Want de $354,6 \text{ mg}$ k.m., waarin 10^9 vetb. van alle afmetingen voorkomen, bevat volgens het GERBER-vetgehalte $3,546 \times 0,51 = 1,81 \text{ mg}$ vet, terwijl we vroeger zagen, dat de vetb. van $0-1 \mu$ en $1-2 \mu$, in die $354,6 \text{ mg}$ k.m. voorkomende, resp. $0,0504 \text{ mg}$ en $0,2186 \text{ mg}$ vet bevatten, zoodat zij dus voor resp. $2,78 \%$ en $12,08 \%$ bijdragen tot het vet der karnemelk.

b. Meting der vetbolletjes van $2-3 \mu$, $3-4 \mu$ en $4-5 \mu$.

Daar deze vetbolletjes reeds veel minder talrijk zijn dan de kleinere, werd de k.m. nu in slechts 4-voudige verdunning onderzocht, waarbij weer loog en citraat werd toegevoegd en voor een gehalte aan $\pm 1\frac{1}{2} \%$ gelatine en $\frac{1}{2} \%$ phenol werd gezorgd. Kamertje en vergrooting waren dezelfde als bij de meting der bolletjes van $0-2 \mu$. In dit praeparaat werd bepaald, weer met den oc.micrometer met schaalverdeeling in 50, hoeveel vetb. kleiner dan 2μ , hoeveel van $2-3 \mu$, van $3-4 \mu$, van $4-5 \mu$ en hoeveel grooter dan 5μ aanwezig waren, door dit telkens na te gaan voor alle op de schaalverdeeling liggende vetbolletjes en dit onder verplaatsing van het kamertje vele malen te herhalen. Op 5710 vetb. van alle afmetingen werden aldus aangetroffen: 5416 kleiner dan 2μ ; 174 van $2-3 \mu$, 58 van $3-4 \mu$, 34 van $4-5 \mu$ en 28 grootere. Hieruit werd berekend, dat op 10^9 vetb. van alle afmetingen voorkwamen $3,047 \times 10^7$ van $2-3 \mu$ met $0,2138 \text{ mg}$ vet, $1,0156 \times 10^7$ van $3-4 \mu$ met $0,2121 \text{ mg}$ vet en $0,5955 \times 10^7$ van $4-5 \mu$ met $0,2642 \text{ mg}$ vet. Op dezelfde wijze als voor de vetb. van $0-2 \mu$ vinden we hieruit en uit het reeds bekende feit, dat de k.m. waarin 10^9 vetb. van alle afmetingen voorkomen $1,81 \text{ mg}$ vet

bevat, dat de vetb. van 2—3 μ voor 12,81 %, die van 3—4 μ voor 11,71 % en die van 4—5 μ voor 14,60 % bijdragen tot het vet der k.m.

Alvorens verder te gaan, moge hier nog opgemerkt worden, dat uit de hier-vóór meegedeelde cijfers, gevonden voor de op 10⁹ vetb. van alle afmetingen voorkomende aantallen vetb. der verschillende grootte-klassen, direct hunne frequentie is af te lezen, zoodat we zien, dat tot het totaal *aantal* vetb. der k.m. de 5 kleinste klassen als volgt bijdragen: kl. 0—1 μ : 82,8 %; kl. 1—2 μ : 13,3 %; kl. 2—3 μ : 3,05 %; kl. 3—4 μ : 1,02 % en kl. 4—5 μ : 0,60 %. Te verwachten is dus, dat de bijdragen der vetb. van de grootere klassen tot het totaal *aantal* nog slechts onbeteekenend zullen zijn, in tegenstelling met die tot het totaal *vetgewicht*, die nog belangrijk kunnen zijn, daar de gezamenlijke vetbijdragen der 5 klassen tot nog toe slechts ± 54 % van het karnemelkvet bedroegen.

c. Meting der vetbolletjes van 5—10 μ in 5 klassen.

Zooals gezegd, is het meten der vetb. grooter dan 5 μ wel uitvoerbaar met behulp van den in 100 vierkantjes verdeelden oc.micrometer, zij het ook, dat de graad van nauwkeurigheid niet zeer groot is, omdat bij het vergelijken van de diameters der vetbolletjes met een vierkantszijde van 10 μ , tiende deelen hiervan geschat moesten worden. Hierdoor kan dus nu de directe methode worden toegepast, waarbij men alleen de in een bepaald volume karnemelk voorkomende vetb. van 5—6 μ , van 6—7 μ , enz. behoeft te meten, zonder dat het aantal kleinere dan 5 μ en grootere dan 10 μ behoeft te worden vastgesteld, terwijl ook de berekening der door de 5 grootte-klassen geleverde bijdragen tot het karnemelkvet nu onafhankelijk van andere tellingen kan geschieden.

Wegens de geringere frequentie van deze vetbolletjes werd de karnemelk slechts 2 maal verdund, door aanvulling met de noodige hoeveelheid loog en citraatoplossing tot het dubbele volume. Toevoeging van gelatine kon bij het onderzoek van vetbolletjes grooter dan 5 μ wegens de geringe Brownsche beweging dier vetbolletjes achterwege blijven, wel werden een paar druppels formaline toegevoegd, terwijl kon worden volstaan met verwarming van het praeparaat op 38—40° gedurende enkele minuten. In het geheel werden 150 velden van 100 vierkantjes à 100 μ^2 onderzocht bij een gemiddelde ware diepte van het kamertje van 126,4 μ , overeenkomende met 0,1896 mm³ der 2 maal verdunde of 0,09753 mg onverdunde karnemelk, met $497,4 \times 10^{-6}$ mg vet. Hierin werden in het geheel 477 vetbolletjes gemeten, nl.: 250 van 5—6 μ , 136 van 6—7 μ , 111 van 7—8 μ , 54 van 8—9 μ en 26 van 9—10 μ , waarin resp. $20,25 \times 10^{-6}$ mg, $18,19 \times 10^{-6}$ mg, $22,80 \times 10^{-6}$ mg, $16,15 \times 10^{-6}$ mg en $10,86 \times 10^{-6}$ mg vet voorkomt, terwijl het onderzochte vol. k.m. $497,4 \times$

10⁻⁶ mg vet bevat. Hieruit volgt, dat tot dit karnemelkvat door de vetb. der 5 klassen tusschen 5 en 10 μ voor resp. 4,07 %, 3,66 %, 4,58 %, 3,25 % en 2,18 % wordt bijgedragen, samen dus voor 17,74 %.

Wat de frequentie betreft, dus de percentsgewijze deelname der vetbolletjes van deze groep in haar geheel aan het aantal der vetb. van alle afmetingen, we zagen, dat er 477 vetb. van 5—10 μ werden aangetroffen in 0,0948 mm³ karnemelk, terwijl we vroeger (onder 1a) hebben gevonden, dat in 345,6 mg of 344,7 mm³ k.m. 10⁹ vetb. van alle soorten voorkwamen. Hieruit volgt dat de vetb. van 0—5 μ , in 0,0948 mm³ k.m., met dus $\frac{0,0948}{344,7} \times 10^9 = 275020$ vetb. van alle afmetingen, voor slechts $\frac{47700}{275020} = 0,17$ % aan dat aantal meewerken.

d. Meting der vetbolletjes van 10—20 μ in 5 klassen.

Tot nog toe bedroeg de totale bijdrage der vetb. kleiner dan 10 μ tot het karnemelkvat ± 72 %; te verwachten was dus, dat ook de grootere vetb. daaraan nog in niet onbelangrijke mate zouden deelnemen. Wegens het relatief geringe aantal dezer vetb. was het wenschelijk veel grootere hoeveelheden k.m. te onderzoeken dan tot nog toe in het zilveren ring-kamertje, met ± 10 mm³ inhoud het geval kon zijn. Te dien einde werd een ander telkamertje vervaardigd uit een rechthoekig zilveren plaatje van $46 \times 23 \times 1$ mm, waaruit een stuk van 30×15 mm werd verwijderd; de overblijvende rand werd op een stevig objectglas van 75×25 mm vastgekit ¹⁾. Een glasplaatje, iets kleiner dan het zilveren plaatje, diende als dekglas en kon met een paar metalen klemmetjes, eveneens met kit op het objectglas bevestigd, stevig op het kamertje worden gedrukt, zoodat verdere afsluiting met was-paraffine niet bepaald noodig bleek.

Dit kamertje kon ± 450 mm³ vloeistof bevatten, dus 45 maal zooveel als het vroeger gebruikte.

Teneinde het aantal grootte-klassen der vetb. niet al te sterk uit te breiden, werd bij deze groote vetb. een opklimming van 2 μ voor elke nieuwe klasse aangenomen. De vergrooting werd 2 maal zoo klein genomen, met Obj. C. Oc. K 18 en tubus 15,3, zoodat 1/10 zijde van een ocul.micrometer-vierkantje 2 μ vertegenwoordigt; de vetb. met een diameter tusschen 10 en 12 μ komen dus overeen met 0,5—0,6 vierkantszijde.

In de 2 maal verdunde karnemelk werden op verschillende plaatsen van het praeparaat in 100 velden van 100 vierkantjes de vetbolletjes van 10—20 μ

¹⁾ Hiervoor bleek geschikt het zoogenaamde Pébé-kit n°. 2, afkomstig van het Phys. Adv. Bureau en Instr. fabr. Dr. C. E. BLEEKER, Utrecht.

in 5 klassen geteld. Daar hier voor de gemiddelde ware diepte 1053μ werd gevonden en ieder veld beantwoordde aan $4 \times 10^4 \mu^2$, werd dus een volume van $4 \times 10^6 \times 1053 \mu^3 = 4,212 \text{ mm}^3$ onderzocht, dus $2,106 \text{ mm}^3$ of $2,167 \text{ mg}$ oorspronkelijke karnemelk, met $11050 \times 10^{-6} \text{ mg}$ vet.

Hierin werden aangetroffen 335 vetb. van $10\text{--}12 \mu$, 152 van $12\text{--}14 \mu$, 102 van $14\text{--}16 \mu$, 31 van $16\text{--}18 \mu$ en 16 van $18\text{--}20 \mu$; die volgens de berekening van het hierin aanwezige vet voor resp. 1,96 %, 1,47 %, 1,52 %, 0,67 % en 0,48 % bijdroegen tot het vet der karnemelk; de 636 vetbolletjes samen voor 6,10 %.

De frequentie dezer groep is zeer gering, want in $2,106 \text{ mm}^3$ karnemelk met dus $\frac{2,106}{344,7} \times 10^9 = 611 \times 10^4$ vetb. van alle afmetingen komen slechts 636 voor van $10\text{--}20 \mu$, dus $\pm 0,01$ %.

e. Meting der vetbolletjes van $20\text{--}40 \mu$ en groter.

Daar de vetb. van $10\text{--}20 \mu$ nog 6,10 % bijdroegen tot het vet der k.m., was het gewenscht het onderzoek met grootere vetbolletjes voort te zetten. Hiervoor werd in hetzelfde praeparaat een veel grooter gedeelte onderzocht, waarbij een 2 maal zwakkere vergrooting werd aangewend (Obj. A. K 18, tub. 18,5), zoodat 1 kleine vierkantszijde met 40μ overeenkwam; $0,5\text{--}0,6$ vierkantszijde was dus even groot als de vetb. der klasse $20\text{--}24 \mu$. Met behulp der kruistafel van het microscoop werden 20 strooken van het praeparaat, elk lang 24 mm ($= 60$ zijden van een veld van 100 vierkantjes) en $0,4 \text{ mm}$ (1 veldzijde) breed, in het geheel dus 1200 velden of 192 mm^2 onderzocht. De gemiddelde ware diepte bedroeg hier $1,047 \text{ mm}$, zoodat er $201,02 \text{ mm}^3$ van de 2 maal verd. k.m. of $100,5 \text{ mm}^3$ oorspronkelijke k.m. met $527,3 \times 10^{-3} \text{ mg}$ vet was onderzocht. De door de vetb. der 5 klassen van $20\text{--}40 \mu$ geleverde bijdragen aan vet bedroegen gezamenlijk slechts 0,79 % van het vet der karnemelk (zie tabel I). De frequentie bedroeg nog geen 0,001 %.

Hoewel dus de kans, dat nog grootere vetb. iets van beteekenis tot het k.m.-vet zouden bijdragen niet groot was, werd de geheele inhoud van het kamertje, met $0,473 \text{ cc}$ 2 maal verd. k.m., afgezocht op vetb. en aggregaten grooter dan 40μ en op boterkluitjes, die na het passeeren der k.m. van de boterzeef (met gaatjes van $\pm 0,7 \text{ mm}$) eventueel in de karnemelk mochten zijn achtergebleven.

Hiervoor werd een zwakkere vergrooting gebruikt (Obj. A. Oc. 4, tub. 14) waarmee 1 zijde der kleine vierkantjes met 80μ overeenkomt. De enkele vetb. en aggregaten, die slechts werden aangetroffen, leverden samen, ruim berekend, niet meer dan 0,02 % van het vet der k.m.. Boterkluitjes kwamen in deze hoeveelheid van $\frac{1}{4} \text{ cc}$ oorspronkelijke k.m. niet voor, maar daar

dit toevallig zou kunnen zijn, werd bovendien eenige malen een hoeveelheid van 5 cc k.m., in een dunne laag in een petrischaal uitgebreid, met een sterke loupe afgezocht. Inderdaad bleken er boterkluitjes, doch slechts heel enkele aanwezig te zijn.

Met behulp van een binoculairmicroscop met zwakke vergrooting en voorzien van een oc.micrometer, werden de afmetingen van deze kluitjes in eenige hoeveelheden van 5 cc k.m. bij benadering vastgesteld. Meestal waren er maar enkele kluitjes van 100—300 μ te vinden, die van 400—500 μ kwamen er niet of bij uitzondering in voor.

Het totale vetgehalte van deze kluitjes werd niet bepaald, maar wanneer we eens berekenen, hoeveel boterkluitjes (met veronderstelden bolvorm en 85 % vetgehalte) van bijv. 200 μ in 5 cc karnemelk zouden moeten voorkomen om 1 % tot het vet der 5 cc k.m. te kunnen bijdragen, dan vinden we, dat daarvoor ± 80 van die kluitjes noodig zouden zijn, of 24 van 300 μ en 5 van 500 μ . Het was nu wel zeker, dat dergelijke hoeveelheden kluitjes niet in de karnemelk voorkwamen.

Bespreking der tot nog toe verkregen resultaten.

Bij optelling der door alle klassen van 0—80 μ geleverde bijdragen tot het k.m. vet, komen we niet hoger dan ± 79 %, waaraan de vetb. van 10—20 μ voor ± 6 % en de nog grootere voor slechts 1 % deelnemen (zie tabel I). Nu was het de vraag of dit deficit misschien aan een toevallige accumulatie van de onvermijdelijke fouten der verschillende bepalingen zou kunnen liggen of dat aangenomen moest worden, dat hier $\pm \frac{1}{6}$ van het karnemelkvet in niet microscopisch zichtbaren vorm aanwezig was. Wat het eerste punt betreft; het is inderdaad mogelijk, dat bij metingen der groepen van 0—2 μ en 2—5 μ , waarvoor de indirecte methode werd toegepast en het totaal aantal vetb. van alle afmetingen in een bekend vol. moest worden bepaald, fouten van meerdere procenten kunnen optreden, door de aanwezigheid van buitengewoon veel uiterst kleine, bijna onzichtbare vetdeeltjes in de karnemelk, die zelfs na uren verwarmen van het praeparaat op 38°—40° nog niet volledig zijn opgestegen tegen het dekglas en moeilijk te onderscheiden zijn van andere nauwelijks zichtbare deeltjes, die soms als verontreinigingen in het praeparaat schijnen voor te komen, niettegenstaande de pijnlijkste daartegen genomen voorzorgen tegen verontreiniging der gebruikte vloeistof en van het glaswerk.

Aan deze omstandigheden zal het waarschijnlijk te wijten zijn, dat bij de onder Ia vermelde tellingen der vetb. van alle afmetingen (waaronder ruim 80 % van 0—1 μ), de eerste keer in 0,002893 mg onverdunde k.m. 7701 vetb. en in een 2de praep. in 0,002491 mg k.m. 7483 vetb., dus per mg k.m.

TABEL I.

Dispersiteit van het vet der karnemelk van gezuurden room.

Nummer der groep van grootte- klassen.	Diameter der vetb. van elke grootte- klasse.	Bijdrage tot het vet der karnemelk in procenten.	Frequentie in p. ocenten van het totaal aan- tal vetb.	Aantal vetb. geteld in de ver- schillende groepen.	Hoeveelheid onverd. k.m., waarin de vetb. van elke groep zijn bepaald. mm ³ .
	μ	%	%		
I	0—1	2,78 ¹⁾	82,80 ¹⁾	828	
	1—2	12,08	13,30	133	
		14,86			
II	2—3	12,81	3,05	174	
	3—4	11,71	1,02	58	
	4—5	14,60	0,60	34	
		39,12			
III	5—6	4,07		250	
	6—7	3,66		136	
	7—8	4,58	0,17	111	0,095
	8—9	3,25		54	
	9—10	2,18		26	
		17,74			
IV	10—12	1,96		335	
	12—14	1,47		152	
	14—16	1,52	0,01	102	2,106
	16—18	0,67		31	
	18—20	0,48		16	
		6,10			
V	20—24	0,36		368	
	24—28	0,19		115	
	28—32	0,15	< 0,001	61	100,5
	32—36	0,04		11	
	36—40	0,05		9	
		0,79			
VI	40—80	0,02 0,02	< 0,001	4	473
	0—80	78,63	100,95		

resp. 2662000 en 3004000 vetb. werden aangetroffen, welke getallen dus 6 % in beide richtingen van het gemiddelde afwijken. Ook in het cijfer 54 %, de bijdrage der vetb. van 0—5 μ tot het k.m. vet, is dus een dergelijke onzekerheid van minstens 6 % van het bedrag gelegen, zoodat dus ruim 57 %

¹⁾ Deze percentages zijn hier en in al de volgende tabellen voor de uniformiteit bij alle grootte-klassen opgegeven in 2 decimalen. Echter is het, ook in verband met hetgeen reeds werd en nog zal worden meegedeeld, duidelijk, dat alleen voor de kleinste waarden (zooals hier van groep V) de 2e decimaal beteekenis heeft en dat zelfs de 1e decimaal der grootere cijfers (bijv. van groep III) nog onzeker is.

zou zijn gevonden, als alleen in het 2de praep. van zoo even de vetb. waren geteld. Op de bijdragen der vetb. boven $5\ \mu$ heeft het genoemde verschil geen invloed. Hoe minder dus de indirecte methode behoeft te worden toegepast hoe beter. Als de toepassing der directe methode algemeen mogelijk was, zou alleen het cijfer voor de vetbijdragen der vetb. v. $0-1\ \mu$ door de genoemde bezwaren bij de kleinste vetb. beïnvloed worden, maar dit cijfer is door zijn kleinheid van weinig belang. Bij de bepaling der vetbijdragen door de grootere vetb. zal de moeilijkheid om de vetb. van 2 opeenvolgende klassen te onderscheiden met behulp van een vrij groven maatstaf, de vierkantszijde van $10\ \mu$, aanleiding geven tot het vinden van eenigszins te groote of te kleine waarden, maar bij optelling dier bijdragen zullen deze fouten elkaar waarschijnlijk grootendeels opheffen, zoodat ze het eindcijfer niet sterk zullen beïnvloeden.

Redenen om aan te nemen, dat het deficit van $\pm 20\%$ aan k.m. vet uitsluitend aan toevallige fouten zou te wijten zijn, waren er dus tot nu toe nog niet. Evenwel bleef het gewenscht de bezwaren der toegepaste methode, door aanwending van een beteren oculairmicrometer, zoo veel mogelijk te ontgaan.

II. Metingen met den in 400 vierkantjes verdeelden oculairmicrometer.

A. ONDERZOEK VAN KARNEMELK II.

De karnemelk van gezuurden room was afkomstig van weidemelk en had een S.G. bij 18° van 1,0284 en een vetgehalte volgens GERBER van 0,62 %.

Met de vergrooting Obj. DD, Oc. K. 18, tub. 18,9 kwam één zijde van elk der 400 vierkantjes van den nieuwen oculairmicrometer overeen met $5\ \mu$, waardoor het nu mogelijk was, ook vetb. kleiner dan $5\ \mu$ te meten; alleen de vetb. van $0-1\ \mu$ konden op deze wijze nog moeilijk worden bepaald. Deze laatste dragen echter, niettegenstaande hun groote frequentie, weinig tot het vetgehalte der k.m. bij. In de k.m. hiervóór onderzocht, was daarvoor 2,78 % gevonden, welk getal echter waarschijnlijk te hoog is, daar bij de berekening van deze klasse als gemiddelde diameter der vetb. $\frac{1}{2}\ \mu$ was aangenomen, wat wegens het groote aantal uiterst kleine vetb. waarschijnlijk te veel is; bij een gemiddelde diam. van bijv. $\frac{1}{4}\ \mu$, zou voor deze klasse slechts 0,3 % zijn gevonden. De vetb. van $0-1\ \mu$ werden daarom voorloopig buiten het onderzoek gelaten. Begonnen werd met de vier volgende klassen van $1-5\ \mu$, die nu in één groep onderzocht konden worden; daarna volgden de vetb. van $5-10\ \mu$.

a. Bepaling der vetb. van $1-5\ \mu$ en van $5-10\ \mu$.

Op dezelfde wijze als vroeger werd een praep. gemaakt van de 4 maal verdunde k.m. en in 20 velden van 400 vierkantjes à $25\ \mu^2$, bij een gemiddelde

diepte van $136,7 \mu$, overeenkomend met $6836 \times 10^{-6} \text{ mm}^3$ onverdunde k.m. met $43,59 \times 10^{-6} \text{ mg}$ vet, het aantal vetb. van $1-2 \mu$, $2-3 \mu$, enz. bepaald. Als maatstaf dienden de zijden der vierkantjes van 5μ , waarbij 5^{de} deelen geschat werden.

Het resultaat was, dat gevonden werden 687 vetb. van $1-2 \mu$, 255 van $2-3 \mu$, 146 van $3-4 \mu$ en 61 van $4-5 \mu$; de hieruit berekende, door de vetb. van elk dezer klassen geleverde, vetbijdragen waren resp. 2,59 % 4,45 %; 6,99 % en 6,21 % van het in de onderzochte hoeveelheid k.m. aanwezige vet, te zamen dus 20,24 %.

Bij een 2de serie metingen in 20 andere velden, overeenkomende met $6866 \times 10^{-6} \text{ mm}^3$ met $43,77 \times 10^{-6} \text{ mg}$ vet, werd als bijdrage der 4 klassen gevonden, resp: 3,51 %, 4,95 %, 8,92 % en 8,31 %, samen 25,69 % van het k.m. vet, dus in elke klasse iets meer dan de eerste keer, wat waarschijnlijk aan een niet volkomen homogene verdeling der vetb. in het praep. is te wijten.

De vetb. der 5 volgende klassen konden nog in hetzelfde praep. worden bepaald, maar daarvoor werden 150 velden, over het geheele kamertje verdeeld, onderzocht, hetgeen beantwoordde aan $53050 \times 10^{-6} \text{ mm}^3$ oorspr. k.m. met $338,3 \times 10^{-6} \text{ mg}$ vet. In deze hoeveelheid werden 378 vetb. van $5-6 \mu$ aangetroffen en van de vier volgende klassen resp. 205, 102, 79 en 43 stuks, die resp. 9,05 %, 8,10 %, 6,19 %, 6,98 % en 5,31 % tot het vet der k.m. bijdroegen, de vetb. van $5-10 \mu$ dus samen 35,63 %.

b. Bepaling der vetb. van $10-20 \mu$ en van $20-40 \mu$.

Hiervoor waren veel grootere hoeveelheden k.m. noodig, waarvoor het kamertje van $30 \times 15 \times 1 \text{ mm}$ werd gevuld met 4 maal verd. k.m.; een geringere verdunning kon bij deze k.m. met betrekkelijk hoog vetgehalte niet worden toegepast, daar de te groote dichtheid der vetb. moeilijkheden gaf bij de meting daarvan en bij de bepaling der schijnbare diepte. Voor de bepaling der vetb. van $10-20 \mu$, over 5 klassen verdeeld, was bij de vergr. Obj.C, Oc.K 18, tub. 15,3, 1 vierkantszijde nu gelijk aan 10μ ; de diam. der vetb. der klasse $10-12 \mu$ bijv. waren dus gelijk aan $1-1,2$ vierkantszijde. Er werden 150 velden onderzocht, welke bij een gemiddelde diepte van $1047,4 \mu$ beantwoordden aan $1,571 \text{ mm}^3$ onverdunde k.m. met $100,2 \times 10^{-4} \text{ mg}$ vet. De hierin gevonden aantallen vetb. van elke klasse kan men vinden in tabel II, waarin ook zijn aangegeven de resp. bijdragen tot het k.m. vet, tot een gezamenlijk bedrag van 11,10 %.

Voor de bepaling der 5 volgende, telkens met 4μ opklimmende, klassen der vetb. van $20-40 \mu$ werd van hetzelfde praep. bij een 2 maal zwakkere vergrooting een oppervlakte van $24 \times 8 \text{ mm}^2$ onderzocht, bij een gemiddelde diepte van $1044,8 \mu$, beantwoordende aan $50,15 \text{ mm}^3$ onverdunde k.m. met

$319,8 \times 10^{-3}$ mg vet. Deze vetb. van $20-40 \mu$ bleken slechts 1,61 % tot het vet der k.m. bij te dragen (zie tabel II).

TABEL II.

Dispersiteit van het vet der karnemelk II van gezuurden room.

Nummer der groep van grootte-klassen.	Diameter der vetb. van elke grootte-klasse. μ	Bijdrage tot het vet der karnemelk in procenten.			Aantal vetb., geteld in de verschillende klassen.	Hoeveelheid karnemelk, waarin de vetb. van elke groep zijn bepaald. mm ³ .
		%	%	%		
I	1—2	a. 2,59	b. 3,51	gemidd. 3,05	687	0,00684
	2—3	4,45	4,95	4,70	255	
	3—4	6,99	8,92	7,96	146	
	4—5	6,21	8,31	7,26	61	
				22,97		
II	5—6		9,05		378	0,05305
	6—7		8,10		205	
	7—8		6,19		102	
	8—9		6,98		79	
	9—10		5,31		43	
				35,63		
III	10—12		4,64		718	1,571
	12—14		2,40		225	
	14—16		1,28		78	
	16—18		1,65		59	
	18—20		1,13		34	
				11,10		
IV	20—24		0,82		503	50,15
	24—28		0,45		170	
	28—32		0,17		41	
	32—36		0,09		15	
	36—40		0,08		9	
				1,61		
	1—40			71,31		

Bij optelling van alle bijdragen van de tusschen 1 en 40μ gelegen klassen, komen we slechts tot ± 71 % van het volgens de GERBER-bep. in de k.m. aanwezige vet, dus nog minder dan hetgeen bij de hiervóór onderzochte k.m. was gevonden (± 76 %). De vetb. van $0-1 \mu$ en grooter dan 40μ werden ditmaal niet onderzocht, maar gezien de resultaten van het vorige onderzoek van een karnemelk van gelijke herkomst, is het onwaarschijnlijk, dat door die vetbolletjes of vet-aggregaten nog meer dan enkele procenten zouden worden

geleverd, aan welke meening door latere bepalingen in nog 2 karnemelken van dezelfde fabriek steun wordt verleend, daar hierin voor de vetb. van 0—1 μ als bijdrage 0,45 % en 1,38 % voor die grooter dan 40 μ slechts 0,34 % en 0,13 % werd gevonden; ook het aantal gevonden boterkluitjes was, evenals vroeger, hier niet van eenige beteekenis.

De tot nog toe verkregen uitkomsten maken het dus reeds waarschijnlijk dat het „Gerbervet” der k.m. niet alleen in den vorm van zichtbare vetbolletjes daarin aanwezig is.

B. ONDERZOEK VAN VOLLE MELK A.

De beschreven methode werd nu ook op volle melk toegepast, voornamelijk om de waarde ervan op de proef te stellen. Daar toch bij melk, voor zoover bekend, practisch al het volgens GERBER bepaalde vet in den vorm van microscopisch zichtbare vetbolletjes voorkomt, zal dus de som der procentische bijdragen van alle onderzochte grootte-klassen niet veel van 100 % mogen afwijken.

Onderzocht werd een gemengde weidemelk met 2,86 % vet en een soortelijk gewicht van 1,0318 bij 15°. De melk werd 50 of 10 maal verdund, waarvoor 1 of 5 cc tot 50 cc werd aangevuld met een 2 % gelatine-oplossing, waarin eenig phenol. Een zilverring-kamertje van $\pm 0,1$ mm diepte werd gevuld, afgesloten en eenige uren op 38°—40° verwarmd.

De vetbolletjes kleiner dan 1 μ zijn relatief veel minder talrijk dan bij k.m., ook komen er in de melk weinig uiterst kleine vetbolletjes voor, hierdoor was het met den hier gebezigten oc.micrometer nog wel te doen, deze overigens voor de vetbijdrage zeer onbelangrijke klasse te bepalen. Het onderzoek der vetbolletjes van 0—20 μ werd in 3 groepen verricht; in groep I de vetb. van 0—5 μ in 5 klassen in de 50 maal verdunde melk met de gewone sterke vergrooting (1 vierkantszijde = 5 μ); in groep II de vetb. van 5—8 μ in de 10 maal verdunde melk bij dezelfde vergrooting en tenslotte als groep III de vetb. van 8—10 μ in de 2 klassen en die van 10—20 μ in 5 klassen, telkens met 2 μ opklimmend, in een zeer groot aantal velden van hetzelfde praeparaat als bij groep II en bij dezelfde vergrooting.

Groep I droeg reeds 76,55 % bij tot het totale melkvet, groep II 23,94 % en groep III slechts 5,02 %, te zamen ± 105 %, een waarde, die vrij goed met de theoretische overeenkomt, wanneer we bedenken, dat voor de berekening van het aantal mg vet van de bij elke groep onderzochte hoeveelheid melk, telkens het cijfer 2,86 % van de GERBER-bepaling is gebruikt, waarin allicht een onzekerheid van 0,05 % vet voorkomt, die dus alleen reeds het gevonden totaalcijfer 105 % met ± 2 % heeft kunnen beïnvloeden.

In elk geval schijnt de gebezigde methode met dezen oculairmicrometer wel voldoende nauwkeurig om de groote verschillen, die vroeger bij karnemelk werden gevonden tusschen het in de vetbolletjes aanwezige vet en het totaal GERBER-vet, als reël te kunnen beschouwen. Evenwel was het niet onmogelijk, dat door een fijner verdeelden oculairmicrometer de nauwkeurigheid nog zou worden verhoogd en de toepassing der methode zou worden vergemakkelijkt.

Wanneer men tevens de frequentie nog wenscht te weten der verschillende grootte-klassen, dus hun percentsgewijze deelname aan het aantal vetbolletjes van alle afmetingen, dan behoeven we bij de vetbolletjes die in de 7 klassen van groep III zijn gevonden in 73233×10^{-6} mm³ melk, slechts op te tellen, de aantallen vetbolletjes der diverse klassen van groep II en I, welke daarin zouden zijn gevonden, wanneer daar eveneens 73233×10^{-6} mm³ melk zou zijn onderzocht. Uit dit totaal aantal — practisch gelijk te stellen met het in dit volume melk voorkomende totaal aantal vetbolletjes van alle mogelijke afmetingen — en de deelname van elke klasse daarin, kan dan de frequentie van elke klasse, procentsgewijs worden berekend (zie tabel III, kolom 4 t/m 7).

TABEL III.

Dispersiteit van het vet van volle melk A.

Nummer der groep van grootte-klassen.	Diameter der vetb. van elke grootte-klasse. μ	Bijdrage tot het vet der volle melk in procenten. %	Hoeveelheid melk, waarin de vetb. zijn bepaald. 10 ⁻⁶ mm ³ .	Aantal vetb. geteld in de verschillende klassen.	Aantal vetb. aanwezig in 73233×10^{-6} mm ³ melk.	Frequentie in % van het totaal aantal vetb. %
I	0—1	0,34	352,4	574	119285	38,34
	1—2	7,54		477	99127	31,86
	2—3	15,07		206	42809	13,76
	3—4	33,12		165	34289	11,02
	4—5	20,48		48	9975	3,20
		76,55				
II	5—6	15,36	16251	924	4164	1,34
	6—7	6,47		236	1064	0,34
	7—8	2,11		50	225	0,07
		23,94				
III	8—9	1,59	73233	115	115	0,04
	9—10	0,83		43	43	0,01
	10—12	0,87		29	29	0,01
	12—14	0,30		6	6	0,01
	14—16	0,53		7	7	
	16—18	0,44		4	4	
	18—20	0,46		3	3	
		5,02				
	0—20	105,51			311145	100,00

III. Metingen met den in 1250 vierkantjes verdeelden oculairmicrometer.

Op den voor dit onderzoek speciaal vervaardigden oculairmicrometer was aangebracht een rechthoek van $5 \times 2\frac{1}{2}$ mm, in 2 vierkanten verdeeld, waarvan ieder 25 gelijke vierkantjes bevatte, die elk door zéér fijne lijntjes weer in 25 vierkantjes onderverdeeld waren. De rechthoek bevatte dus 2×625 vierkantjes, elk met een zijde van 0,1 mm, die bij de sterkste hier gebruikte vergrooting overeenkwam met 2μ van het praeparaat.

a. Onderzoek van volle melk.

Ter beproeving van dezen nieuwen oculairmicrometer en bij wijze van oefening werd een gemengde stalmelk B onderzocht en in bekende volumina daarvan de bijdragen der vetbolletjes van 0—10 μ tot het melkvet bepaald, in 3 groepen, bij de zoo juist genoemde vergrooting.

Groep I bevatte de vetbolletjes van 0—4 μ , in vier klassen onderzocht in de 50 maal verdunde melk, die zich in een zilverring-kamertje van $\pm 0,1$ mm bevond. De gevonden bijdragen der 4 klassen waren hier 0,21 %, 4,45 %, 19,36 % en 27,32 % van het totaal melkvet. Groep II met de vetbolletjes van 4—5 μ , 5—6 μ en 6—7 μ werd onderzocht in de 10 maal verdunde melk in een zelfde kamertje; gevonden werd als bijdrage resp. 25,96 %, 17,49 % en 8,20 % van het melkvet. In groep III werden de vetb. van 7—10 μ in 3 klassen bepaald in de 10 maal verdunde melk, nu in een kamertje van $\pm 0,2$ mm diepte; toch moest hier nog een zeer groot aantal rechthoeken van den oculairmicrometer worden nagezien om in de hoogste klasse een voldoende aantal vetbolletjes te verkrijgen. Deze 3 klassen leverden resp. 1,47 %, 0,68 % en 0,34 % van het totaal melkvet, en alle 10 te zamen dus 105,57 %. Gezien de snelle afname der percentages van groep III, is er geen bijdrage van beteekenis door nog grootere vetbolletjes te verwachten. Het verkregen totaalcijfer is dus weer iets te hoog, doch niet belangrijk, en als voorloopig resultaat niet onbevredigend.

Vervolgens werd een dergelijk onderzoek, doch uitvoeriger, verricht met een paar monsters gemengde weidemelk C en D, met een vetgehalte van resp. 3,12 % en 3,43 % en een soortelijk gewicht van resp. 1,0302 en 1,0315 bij 15°. Het onderzoek strekte zich uit over de vetbolletjes van 0—20 μ , in 4 groepen verdeeld, terwijl voor elke groep een afzonderlijk praeparaat werd onderzocht. De vetbolletjes van 0—10 μ werden in 3 groepen bepaald, waarbij 50 maal, 10 maal en 5 of 4 maal werd verdund, bij de eerste 2 groepen alleen onder toevoeging van gelatine; de metingen geschieden bij het eerste monster melk in een zilverringkamertje van $\pm 0,1$ mm, bij het tweede in een nieuw-model kamertje van Zeiss van juist 0,1 mm diepte, dat uit één stuk glas was vervaardigd. Voor de metingen der vetbolletjes van 10—20 μ werd het vroeger

vermelde groote kamertje gebruikt van $30 \times 15 \times 1$ mm; bij de zooveel grootere diepte hiervan kon, met het oog op de dichtheid der vetbolletjes in het praeparaat, geen geringere verdunning dan 1 vol. melk op 40 water worden toegepast.

Van elke groep werden nu zooveel vetbolletjes gemeten, dat ook van de grootste vetbolletjes dier groep nog één of meer tientallen daarvan werden verkregen; bij groep III van melk C werd voor bepaling der vetb. van $8-9 \mu$ en $9-10 \mu$ om die reden een grooter gedeelte van het praeparaat gebruikt dan voor de vetb. van $6-7 \mu$ en $7-8 \mu$. Voor de allergrootste bolletjes (boven 14μ) kon het gewenschte aantal vetbolletjes wegens hun groote schaarschte niet goed worden bereikt, maar voor het beoogde doel was dit ook niet noodzakelijk, daar hun bijdrage tot het melkvet in elk geval zeer onbeduidend was, vooral bij melk D.

Voor alle 3 groepen der vetb. van $0-10 \mu$ werd de vroeger vermelde sterke vergrooting gebruikt, daar dan voor de meting der vetbolletjes van de met 1μ opklimmende grootte-klassen, slechts halve vierkantszijden behoeften te worden geschat. Een 2 maal zwakkere vergrooting (Obj. C, Oc. K 18, tub. 15,3) werd toegepast bij het onderzoek der 4de groep, waar iedere volgende klasse met 2μ toenam, dus weer met een halve zijde der kleinste vierkantjes van den oculairmicrometer.

Bij het onderzoek van melk C moest nog bij ieder praeparaat herhaaldelijk de schijnbare diepte worden gemeten en de refractie der vloeistof worden bepaald om de ware gemiddelde diepte te leeren kennen; bij melk D, waar het nieuwe Zeiss-kamertje voor de eerste 3 groepen werd gebezigd, konden deze metingen daar achterwege blijven.

De uitkomsten der metingen bij de volle melken C en D verriicht, kan men met verdere bijzonderheden vinden in tabel IV, waarin ook de frequentie van elke grootte-klasse is vermeld, procentsgewijs berekend uit het aantal vetbolletjes, dat voor iedere klasse zou gevonden zijn, wanneer voor elke groep ééNZelfde volume melk ware onderzocht. Ook de aantallen werkelijk gevonden vetbolletjes van iedere klasse en de voor elke groep onderzochte hoeveelheid melk zijn in tabel IV te vinden.

Zooals uit kolom 3 van tabel IV blijkt, naderen de gezamenlijke bedragen der vetbolletjes van de 15 onderzochte grootte-klassen tot het totale melkvet zeer dicht de 100 %, dichter dan met het oog op de vele bronnen van onvermijdelijke fouten eigenlijk verwacht kon worden. De goede overeenstemming met de theoretische waarde maakt aannemelijk, dat de laatst beschreven methode voor dispersiteitsmetingen in melk zeer wel bruikbaar is en ook bij het karnemelkonderzoek zal kunnen worden toegepast.

TABEL IV.

Dispersiteit van het vet van volle melk C en D.

Num- mer der groep.	Diameter der vetb. van elke grootte- klasse. μ	Bijdrage tot het vet der melk in procenten. %		Hoeveelheid melk, waarin de vetb. zijn bepaald. 10-6 mm ³		Aantal vetb. geteld in de verschillende grootte- klassen.		Frequentie in procenten van het totaal aantal vetb. %	
		C.	D.	C.	D.	C.	D.	C.	D.
I	0—1	0,21	0,28	286,5	200	233	320	29,41	33,70
	1—2	5,52	6,35			309	273	28,13	28,75
	2—3	24,07	23,56			291	219	26,49	23,07
	3—4	24,74	26,62			109	90	9,92	9,48
II	4—5	21,70	21,34	2400	2000	377	340	4,10	3,58
	5—6	14,50	11,69			138	102	1,50	1,07
III	6—7	5,17	4,57	20374 53092	25000	253	302	0,32	0,25
	7—8	2,26	1,79			72	77	0,09	0,07
	8—9	0,74	0,71			42	21	0,02	0,02
	9—10	0,51	0,52			21	11	0,01	0,01
IV	10—12	0,14	0,09	652825	655380	45	32	0,002	0,001
	12—14	0,09	0,05			17	10	0,001	< 0,001
	14—16	0,04	0,01			5	1	< 0,001	—
	16—18	0,05	0,00			4	0	—	—
	18—20	0,03	0,01			2	1	—	—
	0—20	99,77	97,59					100	100

b. Onderzoek van karnemelk.

Onderzocht werden 3 karnemelken III, IV en V, bereid in de fabriek der Proefzuivelboerderij uit gezuurden room, de eerste afkomstig van voorjaars-stalmelk, de anderen van najaars-weidemelk. Bij k.m. III werden alleen de bijdragen tot het k.m.vetgehalte door de vetbolletjes van 0—40 μ nagegaan. Tevens werden, om de nauwkeurigheid der methode te toetsen, hierin ook eenige dubbelbepalingen verricht. De karnemelken IV en V werden volledig onderzocht.

Karnemelk III, met 0,37 % Gerbervet, bevatte weer een zeer groot aantal kleine vetbolletjes, zoodat als eerste groep alleen de vetb. van 0—1 μ en 1—2 μ werden geteld in een bekende hoeveelheid 10 maal verdunde karnemelk, na neutralisatie en toevoeging van citraat en gelatine met phenol als vroeger beschreven. Nadat het zilverring-kamertje van 0,1 mm diepte was gevuld en het dekglas afgesloten, werd het praeparaat 2½ uur bij 38—40° verwarmd, waarna de vetbolletjes der eerste groep werden geteld in 10 „velden”, elk

bepaald door den in 1250 vierkantjes verdeelden rechthoek van den oculair-micrometer, waarvan bij de gebruikte vergrooting 1 vierkantszijde beantwoordde aan $2\ \mu$.

Dat de uiterst geringe afmetingen van een deel der vetb. van $0-1\ \mu$ de telling daarvan bemoeilijkt, blijkt uit de dubbelbepalingen in practisch even groote hoeveelheden karnemelk verricht op andere plaatsen van hetzelfde praeparaat (zie tabel V, kolom 3 en 4). Niettegenstaande in beide gevallen de 10 onderzochte velden regelmatig over het geheele praeparaat waren verdeeld, werden resp. 772 en 886 van die vetbolletjes aangetroffen. De hieruit berekende bijdragen tot het karnemelkvet blijken echter zeer onbelangrijk te zijn, nl. 1,85 % en 2,13 %, welke cijfers om vroeger vermelde redenen waarschijnlijk nog te hoog zijn. De overeenstemming tusschen de voor de vetb. van $1-2\ \mu$ gevonden aantallen, nl. 119 en 124 is beter; de hieruit berekende bijdragen tot het vet der karnemelk zijn 7,70 % en 8,04 %.

Groep II met de vetb. van $2-5\ \mu$ werd in de 4 maal verdunde karnemelk onderzocht; kamertje en vergrooting alsvoren. In 120 „velden” werden van deze 3 grootte-klassen geteld: resp. 299, 125 en 59 vetbolletjes met als vetbijdrage resp. 6,99 %, 8,01 % en 8,04 %.

Om eenzelfde grootte-klasse ook nog eens op andere wijze te kunnen bepalen, werd in groep III met de vetb. van $4-5\ \mu$ begonnen en verder die van $5-6\ \mu$ en $6-7\ \mu$ bepaald, nu in de 2 maal verdunde karnemelk, bij dezelfde vergrooting en in eenzelfde kamertje als te voren.

De in 180 „velden” gevonden aantallen vetbolletjes dezer 3 klassen waren resp. 301, 145 en 74, waaruit als bijdrage tot het karnemelkvet volgt 6,84 %, 6,02 % en 5,07 %. Hier werd dus voor klasse $4-5\ \mu$, 6,84 % gevonden dus $\pm 1,2\ %$ minder dan in groep II (8,04 %).

In groep IV, met de vetb. van $6-10\ \mu$, was eveneens de hoogste klasse van de vorige nog eens opgenomen. Daar de verdunning niet kleiner kon genomen worden, werd een 2 maal zoo diep kamertje gebruikt en een zeer groot aantal velden, nl. 500, onderzocht om in elke klasse een voldoende aantal vetbolletjes te verkrijgen. Van deze 4 klassen werden resp. 306, 162, 93 en 53 stuks geteld met een vetbijdrage van 3,86 %, 3,14 %, 2,62 % en 2,09 %, dus voor de klasse $6-7\ \mu$ nu 3,86 %, dus weer ruim 1 % minder dan het cijfer 5,07 %, dat in groep III voor deze klasse was gevonden. Deze verschillen, welke vrij belangrijk zijn, geven een aanwijzing, dat het brengen van een flink aantal vetbolletjes in elke klasse, vooral in die, welke belangrijk bijdragen tot het karnemelkvet, zeer wenschelijk en een zorgvuldige menging bij het verdunnen noodzakelijk is.

Bij de volgende 2 groepen, met de vetb. van $10-20\ \mu$ en van $20-40\ \mu$, werd het grootere kamertje van $\pm \frac{1}{2}$ cc inhoud gebruikt bij 2-malige ver-

dunning en een vergrooting resp. 2 en 4 maal zoo gering als te voren, waarbij 1 kleinste vierkantszijde beantwoordt aan resp. 4 en 8 μ . De aantallen getelde vetbolletjes en de vetbijdragen van deze klassen vindt men in tabel V medegedeeld.

Het totaal aan bijdragen door de vetb. van 0—40 μ bedraagt slechts $\pm 60\%$ van al het vet, dat volgens de GERBER-bepaling in de karnemelk aanwezig zou moeten zijn. Zelfs in het ongunstige geval, dat de gevonden cijfers voor de verschillende grootte-klassen allen $\pm 20\%$ van hun waarde te klein zouden zijn en dus alle fouten in dezelfde richting zouden gelegen zijn, dan zou het totaalcijfer der bijdragen tot het vetgehalte der karnemelk toch nog slechts ruim 70 % bedragen van het GERBER-vet.

TABEL V.

Dispersiteit van het vet der karnemelk III van gezuurden room.

Nummer der groep.	Diameter der vetb. van elke grootte- klasse. μ	Bijdrage tot het vet der karnemelk in procenten.			Aantal vetb., geteld in de verschillende groepen.		Hoeveelheid onver- dunde karnemelk, waarin de vetb. zijn bepaald. mm ³
		%					
I	0— 1	a. 1,85	b. 2,13	gemidd. 1,99	a. 772	b. 886	670×10^{-6}
	1— 2	7,70	8,04	7,87	119	124	669×10^{-6}
II	2— 3			6,99	299	}	8593×10^{-6}
	3— 4			8,01	125		
	4— 5	8,04	}		59		
III	4— 5	6,84			7,44	301	}
	5— 6			6,02	145		
	6— 7	5,07	}		74		
IV	6— 7	3,86			4,47	306	}
	7— 8			3,14	162		
	8— 9			2,62	93		
	9—10			2,09	53		
V	10—12			1,76	378	}	3,678
	12—14			1,35	176		
	14—16			0,83	71		
	16—18			0,74	43		
	18—20			0,65	27		
VI	20—24			0,83	127	}	21,01
	24—28			0,74	69		
	28—32			0,71	43		
	32—36			0,38	16		
	36—40			0,34	10		
	0—40			58,97			

De volgende 2 karnemelken IV en V, waarvan de dispersiteit der vetbolletjes werd onderzocht, bevatten volgens GERBER 0,60 % en 0,86 % vet. Het hooge vetgehalte staat in verband met de verwerking van weidemelk, grootendeels van oudmelke koeien afkomstig.

De bepalingen der vetbolletjes tot $40\ \mu$ geschieden vrij wel op dezelfde wijze als bij karnemelk III; alleen in de volgende bewerkingen was er eenig verschil. In plaats van over 4, werden de vetbolletjes van $0-10\ \mu$ nu over 3 groepen verdeeld; de verdunning was hierbij resp. 10, 4 en 2 maal; bij het onderzoek van groep I en II van karnemelk IV werd een zilverring-kamertje van $0,1\ \text{mm}$, doch voor groep III een kamertje van $0,2\ \text{mm}$ diepte gebruikt. Bij het onderzoek van karnemelk V werd het uit één stuk glas bestaande Zeiss-kamertje van precies $0,1\ \text{mm}$ diepte aangewend, hetgeen bij de metingen en berekeningen een belangrijke tijdbesparing gaf. In geen dezer grootte-klassen werd een geringer aantal dan 20 vetbolletjes geteld, meestal vele malen méér. Verder bleek bij het onderzoek der groepen $10-20\ \mu$ en $20-40\ \mu$ in het groote kamertje van $30 \times 15 \times 1\ \text{mm}$, wegens het hooge vetgehalte der karnemelk V, het beter te zijn, de verdunning in plaats van twee-, viermaal te nemen.

Wat de vetb. van $40-80\ \mu$ betreft, die in 10 grootte-klassen werden ingedeeld: in de geheele hoeveelheid 2 maal verdunde karnemelk IV, die het groote telkamertje vulde, konden slechts in het geheel 33 vetbolletjes worden gevonden, waarvan 25 in de eerste 3 klassen. Het gezamenlijke vetgehalte dier vetbolletjes bedroeg slechts 0,13 % van het GERBER-vet, dat in het kamertje aanwezig was. De 3 maal verdunde karnemelk V bevatte in hetzelfde volume 83 vetbolletjes van $40-80\ \mu$, waarvan 78 tusschen 40 en $60\ \mu$ groot waren. De totale bijdrage dezer 83 vetbolletjes bedroeg 0,34 % van het karnemelkvet, dus was ook hier van weinig beteekenis. De grootste vetbolletjes, die in deze 2 karnemelken werden aangetroffen, waren $66\ \mu$ in diameter.

Tenslotte konden ook de enkele boterkluitjes, met een diameter van enkele tiendedeelen van een mm, welke in 5 cc van de onverdunde karnemelk IV en V werden aangetroffen, evenmin als dit in het vroeger gesproken geval van karnemelk I het geval was, in eenigszins belangrijke mate bijdragen leveren tot het vet dier karnemelken.

De uitkomsten van al deze bij karnemelk IV en V verrichte metingen en ook de als vroeger bij melk C en D berekende frequenties ¹⁾ vindt men in tabel VI verenigd. We zien hier o.a. uit, dat de vetb. van $20-40\ \mu$ van karnemelk

¹⁾ De frequentiecijfers hebben bij km slechts betrekkelijke waarde, daar de nauwkeurige bepaling der vetb. van $0-1\ \mu$ zeer moeilijk is en fouten hierin natuurlijk ook de overige frequenties beïnvloeden.

V in een ± 21000 maal zoo groot volume karnemelk werden bepaald als de vetb. van 0—2 μ .

TABEL VI.

Dispersiteit van het vet der karnemelken IV en V van gezuurden room.

Num- mer der groep.	Diam. der vetb. van elke grootte- klasse. μ	Bijdrage tot het vet der karnemelk in procenten. %		Hoeveelheid karnemelk, waarin de vetb. zijn bepaald. mm ³		Aantal vetb. geteld in de verschillende grootte- klassen.		Frequentie in procenten van het totaal aantal vetb. %	
		IV	V	IV	V	IV	V	IV	V
I	0—1	1,38 ¹⁾	0,45 ¹⁾	0,00074	0,0010	1039	646	78,93	61,80
	1—2	7,50	4,76			209	256	15,88	24,49
II	2—3	6,19	6,14	0,00751	0,0050	377	356	2,83	6,81
	3—4	7,08	7,57			157	160	1,18	3,06
	4—5	9,10	9,96			95	99	0,71	1,90
III	5—6	5,02	7,98	0,1069	0,030	408	261	0,22	0,83
	6—7	4,53	8,73			223	173	0,12	0,55
	7—8	3,12	6,43			100	83	0,05	0,27
	8—9	2,81	4,85			62	43	0,03	0,14
	9—10	2,47	3,15			39	20	0,02	0,06
IV	10—12	3,05	3,89	1,571	1,052	455	558	0,02	0,051
	12—14	2,18	2,58			197	224	0,007	0,020
	14—16	1,31	2,09			77	118	0,003	0,011
	16—18	1,06	1,03			43	40	0,002	0,004
	18—20	0,72	0,93			21	26	0,001	0,002
V	20—24	0,56	0,64	41,71	21,04	280	228	< 0,001	0,002
	24—28	0,36	0,65			108	141		
	28—32	0,26	0,45			51	64		
	32—36	0,13	0,26			17	25		
	36—40	0,10	0,17			10	12		
VI	40—80	0,13	0,34	234,2	156,6	33	83	< 0,001	< 0,001
	0—80	59,06	73,05					100	100

Nog op één verschijnsel, dat zich bij sommige karnemelken in vrij sterke mate schijnt te kunnen voordoen en dat het totaal-cijfer van het zichtbare vet zou kunnen beïnvloeden, moet hier de aandacht worden gevestigd. Bij het microscopisch onderzoek van eenigszins grootere hoeveelheden van karnemelk V viel het op, dat daarin vrij veel aggregaten van vetbolletjes voorkwamen,

¹⁾ Over de waarde der decimalen van deze en de volgende cijfers, zie men de Noot onder tabel I, die voor alle tabellen geldig is.

die een onregelmatigen, dikwijls recht- of veelhoekigen en zeer uiteenloopenden vorm vertoonden, waarvan de horizontale afmetingen, geschat in vierkantjes van $40 \times 40 \mu$, meestal ongeveer met 1 à 3 daarvan overeenkwamen, ofschoon ook nu en dan kleinere of grootere werden aangetroffen. Wanneer de verticale afmetingen dezer aggregaten ook van dezelfde grootte-orde zouden zijn, dan ware ongetwijfeld rekening te houden met de bijdragen aan vet, die deze verzamelingen van vetbolletjes tot het melkvet zouden kunnen leveren.

Nu maakte de groote meerderheid dezer aggregaten echter in het geheel niet den indruk een groote dikte te hebben en bij voortgezet onderzoek bleek dan ook al spoedig, dat we hier te doen hadden met vliesjes, waarop zich een groot aantal vetbolletjes hadden afgezet; de minst bezette vliesjes waren duidelijk als zoodanig te herkennen, wanneer door plaatselijken druk op het dunne dekglas van een telkamertje van 0,2 mm diepte, met 2 maal verdunde karnemelk gevuld, hierin krachtige beweging werd veroorzaakt; meermalen kon dan zelfs een golvende beweging of een oprollen van het met vetbolletjes voorziene vliesje worden waargenomen. Daarbij kon tevens worden geconstateerd, dat in verreweg de meeste gevallen de bezetting der vliesjes niet uit vele lagen van vetbolletjes bestond, maar in den regel uit een enkele of hoogstens 2 lagen, dikwijls met open ruimte tusschen de vetbolletjes, die gemiddeld ook niet bijzonder groot van afmetingen waren. Een schatting, waarbij het vet der vetbolletjes, gedacht als een over het vliesje uitgespreid laagje, een dikte van 10μ zou kunnen bereiken, werd wel als een maximum beschouwd voor de dicht bezette vliesjes. Met deze maximumwaarde als grondslag werden in een drietal karnemelken, die het besproken verschijnsel ongeveer even sterk vertoonden als karnemelk V, (doch welke zelf voor dit onderzoek niet meer geschikt leek), de gezamenlijke vetbijdrage dezer aggregaten bij benadering bepaald door meting van de horizontale afmetingen daarvan, met behulp van de ruitverdeeling van den oculairmicrometer in een bekend volume karnemelk.

Bij deze 3 karnemelken, waarvan het vetgehalte zeer hoog was, nl. 0,80 %, 0,73 % en 0,78 %, werd op deze wijze een *maximale* bijdrage gevonden van 3,3 %, 5,5 % en 3,8 % tot het karnemelkvet. Van veel beteekenis voor het totaalcijfer is dit verschijnsel dus niet, tenzij het eventueel in veel sterker mate zou optreden; dan zou echter nauwelijks meer van normale karnemelk gesproken kunnen worden.

Over den aard der waargenomen vliesjes is nog niet veel met zekerheid te zeggen; het in grooten getale verschijnen ervan in de karnemelk hangt waarschijnlijk wel samen met het verwerken van veel „oude” melk en het schijnt niet uitgesloten, dat ze bestaan uit plaatepitheelcellen of verzamelingen daarvan, uit de tepelkanalen afkomstig. De gevonden afmetingen der vliesjes zijn daarmede niet in strijd; het sterk hechten van vetbolletjes aan cellen (leuko-

cyten b.v.) is een bekend verschijnsel; ook maakt de uiterst geringe dikte der vliesjes het minder waarschijnlijk, dat we hier met uit de melk afgescheiden vaste bestanddeelen zouden te doen hebben, tenzij het bij het karnen ontstane schuimvliesjes zouden zijn. Dit laatste is echter, na hetgeen daarover door VAN DAM en HOLWERDA ¹⁾ is gevonden, niet waarschijnlijk ²⁾. Ook zijn schuimvliesjes gemiddeld veel kleiner en ronder van vorm en ziet men er zelden vetbolletjes aan vastgehecht.

Eenigen tijd later, in November, toen de gemengde melk reeds vrij wat melk van nieuwmelksche koeien bevatte ³⁾, werden de vliesjes al veel minder in de karnemelk aangetroffen. De bovengenoemde maximumbijdrage aan vliesjesvet bedroeg in 3 karnemelken toen slechts 0,7 %, 0,9 % en 1,6 %, terwijl ook het vetgehalte der karnemelk weer normaal werd, nl. 0,52 %, 0,49 % en 0,38 %.

Wanneer we nu de resultaten van het voorgaande onderzoek nagaan, dan zien we, dat de gezamenlijke bijdragen der vetbolletjes tot het GERBER-vet der karnemelk in alle 5 gevallen ver onder de 100 % blijft. Gemiddeld werd gevonden 68 % met een middelbare afwijking van ± 4 %.

In elk geval is dus, ook in verband met hetgeen met deze gewijzigde methode der dispersiteitsbepalingen in *melk* is gevonden, duidelijk gebleken, dat een belangrijk deel van het GERBER-vet der karnemelk in anderen vorm dan in dien van vetbolletjes of boterkluitjes voorkomt, zooals onlangs ook door VAN DAM en HOLWERDA ⁴⁾ is gevonden, zoowel door extinctiemetingen en ultramicroscopisch onderzoek, als ook door de positieve uitkomsten der vetbepalingen volgens GERBER in de door zéér krachtig centrifugeeren practisch van alle microscopisch zichtbare vetbolletjes bevrijde karnemelk, nadat deze geneutraliseerd en van citraat voorzien was.

Uit welke bestanddeelen dat „vet”, hetwelk volgens de GERBER-bepalingen in de karnemelk méér wordt aangetroffen dan in de vetbolletjes alleen, is samengesteld, is nog niet volledig bekend. Wel weet men, dat er in de karnemelk vrij veel phospholipoiden, zooals lecithine, aanwezig zijn, die waarschijnlijk bij het karnen uit de omhulsels der roomvetb. in de karnemelk zijn over-

¹⁾ l.c. blz. 204.

²⁾ Blijkens mondelinge mededeeling vonden deze schrijvers in het Trommsdorff-sediment van zoete karnemelk wel eenige zeer dunne, grootere vliezen, die echter uiterlijk niets gemeen hadden met de typische schuimvliesjes, zooals ze zich in centrifugemelk voordoen. Ze werden gehouden voor resten van adsorptie-huidjes van eenige grootere luchtbellen, die allicht in een karn wat langer kunnen bestaan.

³⁾ Aan de Proefzuivelboerderij te Hoorn wordt in het najaar steeds een flink aantal hoogdrachtige koeien aangekocht, teneinde ook in den winter over een voldoende hoeveelheid melk te kunnen beschikken.

⁴⁾ l.c. blz. 193.

gegaan ¹⁾). Nu kunnen bij de GERBER-vetbepaling uit de lecithine van de karnemelk vetzuren worden vrijgemaakt, die in de GERBER-buis in de vetlaag mede worden afgelezen, hetgeen PETERSEN en HERREID ²⁾) aanleiding gaf om bij de karnemelk een andere methode met alkalische reagentiën toe te passen, waarbij de vetzuren aan de lecithine zouden gebonden blijven en deze de vetkolom niet zou beïnvloeden. Bij toepassing dezer „Minnesota Babcock-methode” op eenige der bij dit onderzoek gebruikte karnemelken, werd inderdaad een iets lager vetgehalte gevonden; het gevonden verschil is echter veel te klein, om de tusschen het GERBER-vet en het vetbolletjes-vet gevonden verschillen te kunnen verantwoorden.

Waarschijnlijk vormt de lecithine slechts een deel van het mengsel, waaruit het microscopisch onzichtbare deel van het karnemelkvet bestaat.

SAMENVATTING.

Onderzocht werd in hoeverre de hoeveelheid van het microscopisch zichtbare vet der karnemelk overeenkomt met het volgens GERBER bepaalde vetgehalte.

De door RAHN en anderen bij melk toegepaste methode, waarbij in een niet bekende hoeveelheid vloeistof de frequentie der vetbolletjes en hieruit de bijdragen der verschillende grootte-klassen der vetbolletjes tot het melkvet wordt bepaald, kan niet op karnemelk worden toegepast. In de eerste plaats omdat bij de berekening dezer bijdragen reeds verondersteld wordt, dat de som ervan overeenkomt met het volgens GERBER bepaalde melkvet; verder komen in karnemelk veel meer groote vetbolletjes voor, zoodat een sterke uitbreiding van het aantal grootte-klassen daarvan noodzakelijk is, die groepsgewijs bij verschillende verdunningen en vergrotingen moeten worden onderzocht.

Bij het onderzoek van elke groep werd telkens in een nauwkeurig bekend volume bepaald, hoeveel vetbolletjes van elke grootte-klasse dier groep daarin voorkwamen. Hieruit werd de vetbijdrage van elke klasse tot het in de microscopisch onderzochte hoeveelheid karnemelk aanwezige GERBER-vet percentsgewijze berekend. Door een zoodanig volume te onderzoeken, dat van elke klasse een flink aantal vetbolletjes werd geteld, kon ook voor de groote vetbolletjes een voldoende nauwkeurigheid worden bereikt. Het onderzoek strekte zich tot aan de vetbolletjes van 80μ uit; ook op de aanwezige aggregaten en kleine boterkluitjes werd gelet.

Voor deze methode van onderzoek, die ter vergelijking ook op eenige monsters melk werd toegepast, bleek zeer geschikt een oculairmicrometer,

¹⁾ PALMER and WIESE, *Journ. of Dairy Science*, XV, 371 (1932); XVI, 41 (1933).

²⁾ PETERSEN and HERREID, *Techn. Bull.* 63 (1929), Univ. of Minn., Agr. Exp. Stat.

waarop een zeer fijne verdeling in vierkantjes was aangebracht, wier zijde bij de sterkste vergrooting met 2μ van het praeparaat overeenkwam. Met behulp hiervan werden zoowel de vetbolletjes gemeten en geteld, als ook het telkens onderzochte volume der vloeistof bepaald, wat het eenvoudigst geschieden kon, wanneer tevens een telkamertje van bekende diepte werd gebruikt.

Het resultaat van deze metingen was, dat terwijl bij melk de som der gevonden percentsgewijze bijdragen der diverse grootte-klassen van vetbolletjes tot het totale melkvet weinig van 100 afweek, bij karnemelk daarentegen de 100 % van het volgens de GERBER-bepaling aanwezige vet bij lange na niet werd bereikt. Hieruit volgt dus, dat een belangrijk deel van het „Gerbervet” der karnemelk in niet microscopisch zichtbaren vorm voorkomt, zooals ook langs andere wegen door VAN DAM en HOLWERDA kon worden aangetoond.

SUMMARY.

MEASUREMENTS OF THE DISTRIBUTION OF THE DIFFERENT SIZED FATGLOBULES IN MILK AND BUTTERMILK.

We examined how far the quantity of the microscopically visible fat in buttermilk tallies with the percentage of fat as determined by GERBER's method.

The method applied by RAHN and others in examining milk consisted in determining the frequency of the fat globules in an unknown volume of the liquid and from it calculating the quantities contributed to the fat of the milk by the different dimensional classes of globules. This method cannot be applied to buttermilk because in making the calculations of the contributions their sum in preproposed to be equal to the quantity of fat found by GERBER's method. Further, there are far more large-sized globules in buttermilk than in milk, which necessitates a considerable extension of the number of their dimensional classes. These have to be examined in separate groups in different dilutions and under different magnifications.

In examining each group the numbers of fat globules, in accurately known volumes, of each class of the group were first determined. From these numbers the quantity of fat contributed by each class to the quantity of Gerber-fat contained in the quantity of buttermilk examined each time, was calculated in percentages. By taking the volumes sufficiently large for a fair number of globules of each class to be counted, sufficient accuracy was reached, also as regards the large-sized fat globules. The examination was extended to the 80μ

fat globules. Attention was also given to the aggregates and small lumps of butter.

An ocular micrometer with a very fine division made on it into squares whose sides were equal, under the strongest magnification, to 2μ of the slide, was found to be a very practical device for this method of examination, which, for the sake of comparison, was also applied to some samples of milk. Both the measuring and counting of the fat globules and the determination of the volume of the quantity of liquid examined each time, was done with the help of this micrometer. The work was much simplified by the use of a counting-chamber of known depth.

The result obtained by these measurements was that, whereas in milk the sum of the percentages contributed by the different classes of fat globules to the total quantity of fat differed little from 100, in the case of buttermilk the sum remained far below the 100 percent of the fat found by GERBER's method. It follows that a considerable part of the Gerber-fat contained in buttermilk occurs in it in a form in which it is not visible through the microscope, as was also shown, in a different manner, by VAN DAM and HOLWERDA.