

14529

Subl
37769

332

Dr STANISŁAW SERKOWSKI

49293

SANITARNA ANALIZA MLEKA



I OKREŚLANIE W NIEM

BRUDU, PEPTONU I KWASU MASŁOWEGO

BIBLIOTEKA
Szpitala Karola
Dla Dzieci
Nr. 313



WARSZAWA

DRUK SYNÓW ST. NIEMIRY, PLAC WARECKI 4



Biblioteka Główna
WUM



www.dlibra.wum.edu.pl

Cel każdej analizy sanitarnej produktu spożywczego polega na dążeniu do wyjaśnienia dwóch pytań: 1-o czy dany produkt nie jest szkodliwy dla zdrowia? i 2-o czy zawiera właściwe substancje w prawidłowym stosunku? Uwzględnienie obydwóch pytań ma za zadanie analiza sanitarna, w przeciwstawieniu do towaroznawczej, która zajmuje się drugą kwestią (zafałszowania).

Czyż trzeba sięgać daleko po przykłady? Wiadomo, naprz., że zjadliwe bakterie chorobotwórcze mogą być i są w rzeczywistości rozsiewane przez mleko i produkty mleczne — bez względu na to, czy mleko jest „normalne“ pod względem składu chemicznego, czy też zafałszowane. Analiza towaroznawcza kieruje się w rozbiórce chemicznym rutyną, nie dążąc równolegle za postęпами higieny: mam tu na myśli choćby brak w analizie chemicznej badań bakteryoskopowych i bakteryologicznych, określania ropy¹⁾ i t. p. Przytem chcę zwrócić uwagę na konieczność określania peptonu, który wytwarza się pod wpływem wielu tlenowych i beztlenowych bakterii i który jest w mleku stanowczo szkodliwym dla niemowląt i dzieci; w mleku speptonizowanym pod wpływem bakterii ciała białkowe znajdują się w różnych okresach rozkładu, co powoduje wpływ szkodliwy na niemowlęta (Zuntz, Munk, Pfeiffer, Neumeister i inni) i jest też jedną z przyczyn wysokiej śmiertelności. Takie przykłady i w dużej liczbie mógłbym przytoczyć o każdym produkcie spożywczym²⁾. Badania mleka można podzielić na następujące kategorie:

1-o próby rynkowe, 2-o sanitarna analiza mleka (ewentualnie z próbą oborową), 3-o badania przyczyn zatrucia, intoksykacji zbiorowych i t. p., 4-o analizy towaroznawcze, 5-o wszechstronna analiza do celów specjalnych—teoretycznych.

¹⁾ Gratz i Nāray (Milch w. Centr. 1912, 41, str. 225) zwracają uwagę na stosunek wielojądr. do jednojądrowych leukocytów, inny w mleku normalnym, inny w patologicznym.

²⁾ Szczegółowo: p. S. Serkowski. *Metodyka badań sanitarnych*, Warszawa 1916 r. (w druku).

Do prób rynkowych, orientacyjnych zaliczyć można: oznaczenie brudu, reakcji (próby rozolowa i alizarolowa), ciężaru, właściwego i tłuszczu, oraz nowa zastosowana przezemnie próba meta-kazeinowa.

Analiza sanitarna uwzględniać musi następujące: 1. Próbę fermentacyjną (z oznacz. czasu obserwacji), próba ta służyć może równocześnie do określenia peptonu, 2. Stopień kwasoty i przyrost. 3. Przybliżone oznaczenie brudu. 4. Próbę leukocytową (mikroskopową z oblicz. ilości leukocytów, lecz nie próbę Rullmann-Tromsdorffa). 5) Próba na katalazę. 6. Próba redukcyjna. 7. Próba Jem-ma (toksyny gruźlicze) w mleku dla niemowląt. 8. Bakteryę gruźlicy i perlicy: w razie wykrycia—odróżnianie typu w celu stwierdzenia, czy zakażenie nastąpiło przez ludzi chorych czy też od tuberk. zwierząt. 9. Analiza jakościowa bakteryoskopowa i bakteryologiczna osadu z uwzględnieniem beztlenowców i bakterii chorobotwórczych, nie rosnących na zwykłych podłożach. 10. Ilościowe oznaczenia: a) termofilowe miano *Baehr'a*¹⁾; b) obliczanie bezpośrednio kolonii lub przynajmniej orient. próba Olav Skar'a²⁾ lub Breed'a³⁾. 11. Badanie fizyczne i chemiczne: ciężar właściwy mleka i serwatki (z podaniem sposobu oddzielenia), odsetka śmietanki, liczba refrakcji, określenie peptonu (2-kr. w odstępach 12 godz.), oznaczenie % tłuszczu. Sucha substancja: ogólna i beztłuszczowa. Domieszki: sztuczne (woda i środki utrwalające), przypadkowe (po-biała, aluminium).

Przy analizach masowych i niedostatecznym personelu niemożliwym jest uwzględnianie wszystkich punktów (naprz. 7), przytem pp. 5 i 6 znajdują wyjaśnienie w pp. 9 i 10; w żadnym razie jednak nie można pominąć pp. 3, 4, 8, 9, 11.

W *przypadkach intoksykacji*, zależnych od mleka, uwzględniać należy: próbę Jem-ma (toksyny gruźlicze), określenia glinu, innych metali, środków konserwujących, alkaloidów⁴⁾, jako domieszek przypadkowych lub sztucznych, peptonu i kwasu masłowego, bakterii peptonizujących (tlen. i beztlen.), stopień kwasoty i przyrost.

Próby towaroznawcze, uwzględniane przeważnie w mleczarniach zbiorowych: ciężar właściwy, kwasowość, próba fermentacyjna, próba podpuszczkowa i na antilab, % tłuszczu; sucha substancja;

¹⁾ *Baehr*. Arch. f. Hygiene 1910, t. 72 str. 91. ²⁾ *Milch*. Centr. 1912 str. 454 i 705, ³⁾ tamże str. 263. Istnieje też do tego celu próba *Rosama* (*Milch*. Centr. 1913, str. 333). ⁴⁾ Częste zatrucia po mleku koziem zwykle warunkują się alkaloidami paszy.

ewent. domieszka wody (byłoby pożądanę, aby i mleczarnie rozszerzyły zakres badań w kierunku analiz sanitarnych).

Szczegółowe badania mleka—prócz prób powyższych — uwzględnić mogą w całości lub częściowo duży szereg prób i oznaczeń, jak nprz. 1) Odróżnianie mleka krowiego od kobiecego (próby Tugendreicha, Moro, Bauera, pr. precypitacyjna, odchylenia komplementu, anaphylaktyczna); 2-o określanie fermentów—oksygenazy i katalazy (pr. Lobeck'a w mojej modyfikacji ¹⁾ i pr. Fäitelowitza); 3-o reduktazy (pr. Smidta, Neisser-Wachsberga, Müllera, Gerbera); 4-o próby na ogrzewanie (Arnolda, Rottenfussera, Storch'a, Wildesona, Schardingera, Rubnera, Seligmanna i in.); 5-o określanie amylazy (próby Lintnera i Koninga); 6-o fermentów proteolitycznych (pr. Ferri); 7-o glikolitycznego; 8-o laktazy (nad którą obecnie wykonuje w mojej pracowni doświadczenia p. Ołtuszevska); 9-o próby fermentacyjne (pr. Buttenberga, Gerbera, Schaffera, Epsteina), 10-o próby kazeinowe i na antilab (pr. Scherna); 11-o zarzucone już dzisiaj próby na amonjak i kwasy azotowy ²⁾ i azotawy; 12-o oznaczenia porównawcze brudu w mleku różnemi metodami (wagowo, kolorymetrycznie i próby mieszane); 13-o próba hemolityczna (próba Bauer-Sassenhagena); 14-o różnice w ciężarze serwatki oddzielanej kw. octowym, kw. solnym, chlorkiem wapnia; 15-o oznaczanie zawartości tłuszczu wagowo (pr. Vogela, Gottlieb-Rösego, Farnsteinera), areometrycznie (nieużywana obecnie próba Soxhleta), refraktometrycznie (pr. Wolny'ego), wolumetrycznie (acidbutyr. Gerbera, „Sal“, sinacidbutyr. Sichlera); 16-o białko (azot w. Kjeldahla, próba Ritthausena, pr. Libermanna); 17-o kazeina (pr. Hoppe-Seylera, modyf. Schmidta do pokarmu kobiecego, pr. Schlossmanna, pr. Sebelieu, pr. Lehmana, Matthaopoulos); 18-o albumina przez obliczenie i bezpośrednio; 19-o cukier mleczny (wagowo i miareczk. Soxhleta, pr. Sachsa, pr. Rieglera; polarymetr.; refraktometr. w zastosowaniu tylko do mleka krowiego; kolorymetrycznie — próba Bolesł. Heimana. 20. Oznaczenie popiołu. 22. Oznaczenie kwasu

¹⁾ *St. Serkowski*. Badania nad katalazą bakteryjną, przedst. w Warsz. Tow. Naukowym d. 6 Kwietnia 1914 r., druk. w sprawozd. Warsz. Tow. Naukowego.

²⁾ Doświadczenia *Rothenfussera* (*Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs t. 18*, z. 6) wykazały, że te oznaczenia są bez wartości nawet w obecności kału krowiego lub wody z gnojówki.

cytrynowego (próba Scheibe). Obliczenia według formuł Fleischmanna, Halenke-Möslingera, Siats (sucha substancja), Reicha, Babcocka (beztłuszczowa sucha substancja), Vogela, Ambühla, Herza, (domieszki wody w zastosowaniu do próby oborowej), Peligot, Bialon i in. Powyższe próby szczegółowo opisane są w *II wydaniu* książki mojej „Mleko i Mleczarstwo“ (wyjdzie z druku 1916 w końcu roku).

Strącanie brudu z dużej objętości mleka i obliczanie ciałek ropnych w osadzie uważam za podstawę analizy sanitarnej, ponieważ bakterie szkodliwe zawsze znajdują się w ścisłym związku bądź z brudem bądź z ropą. Do badania bakteryologicznego nie wystarczy wziąć dowolną próbę mleka, lecz zarówno mikroskopia jak posiewy bakteryologiczne opierać się muszą głównie na osadzie, a po części i na śmietance: tłuszcz, wznosząc się, zabiera mechanicznie część brudu wraz z zawartymi w nim drobnoustrojami.

Przez pewien czas istniał pogląd, że próby na katalazę i reduktazę same przez się mogą zastąpić badania ściśle bakteryologiczne, co więcej — że nawet mogą być wystarczające do oceny sanitarnej mleka. Doświadczenia wykazały mylność takiego poglądu. Próby Koninga, Lobecka i Faitelowitza wychodziły z założenia, że nadmierna zawartość katalazy wskazuje *na obecność paciorkowców i zapalenia sutek paciorkowcowego pochodzenia* lub też że mleko nie jest świeżem, i uwzględniały zawartość wytworzonego gazu do 15 ctm. sz. w próbie Koninga, do 10 ctm. sz. w katalazrze Lobecka. Na mocy własnych doświadczeń (l. c.) neguję, aby duża zawartość katalazy wskazywała na paciorkowcowe zapalenie wymion, raczej wskazuje *na obfity wzrost innych bakterii, zwłaszcza gronkowców lub laseczników ropy błękitnej, lecz nie paciorkowców i nie bakterii kwasu mlecznego*. Powtóre—przekonałem się, że w mleku zakażonym gronkowcami cyfra katalazy może wynosić 50—100 do kilkuset ctm. sz. gazu na 15 ctm. sz. mleka i odpowiednio do tego zmodyfikowałem przyrząd Lobecka (firma Hugershoffa w Lipsku). Wreszcie uważam próbę jodometryczną za najmniej pewną, do oznaczania katalazy bakteryjnej, ponieważ bakterie same przez się wydzielają jod z jodku potasu. Ważne znaczenie mieć może próba na katalazę w mleku sterylizowanym dla niemowląt: obecność katalazy w takim mleku wskazuje na zakażenie bakteryjne późniejsze¹⁾.

¹⁾ Przypomnieć tu mogę, że niektórzy autorzy, jak naprz. *Grimming* (Chem. u. Phys. d. Milch. 1910 str. 210) zaliczają katalazę nie do utleniających, lecz do redukujących fermentów.

Co do reduktazy i t. zw. prób redukcyjnych, te ostatnie mogą dać wprawdzie wskazówki na obecność w mleku dużej grupy bakterii redukujących, ale te próby nie mogą być wystarczające do oceny bakteriologicznej mleka, ponieważ *większość bakterii chorobotwórczych tej cechy nie posiada*, a z drugiej strony istnieją bakterye reduk. zupełnie niewinne. Wybitna próba redukcyjna, czy to w obliczeniu na małą ilość mleka (0.01—1,0) w próbie Smidta, czy to w szybkości występowania (czas) w próbach Müllera i Gerbera, pozwala tylko *z pewnem prawdopodobieństwem przypuszczać* obecność nawozu i bakterii okrężnicy (*b. coli com.*) lub innej flory niepożądaney.

Tembardziej więc, wobec tak ograniczonego znaczenia obydwóch prób powyższych, niezmierną doniosłość ma badanie jakościowe bakteriologiczne oraz w ścisłym związku z niem strącenie brudu wraz z ropą i bakteryami.

Jakkolwiek niema i nie może być zupełnie pewnej próby do ilość. oznaczenia brudu (zmienny skład jego i osadzenie tylko części nierozpuszczalnej), w szeregu lat stosuję z możliwie dobrym wynikiem dwie próby—w jednej oryentacyjnej osadzony brud służy zarazem za materiał do mikroskopii, bakterioskopii i posiewów, a druga ściślejsza do prób przybliżonych kolorymetrycznych. Opis pierwszej w krótkości podałem już w 1902 ¹⁾ i 1907 ²⁾ roku. Zamieszczam je tu, ponieważ nie wymagają żadnych specjalnych przyrządów, dostępne są dla małych pracowni i dają wyniki nie gorsze od prób i metod innych badaczów: krytyczną ocenę prób zamieszczam poniżej.

Oryentacyjna próba polega na tem, że mleko w przezroczy-
stych butelkach kładziemy *w skośnej pozycji na lód*, jak przedsta-
wia fotogr. 1-a. Dodatek formaliny lub innego środka antysepty-
cznego nie może w zupełności zastąpić lodu. Mleko, znajdujące
się w sprzedaży, musi być tak czystem, aby nie dawało ża-
dnego widocznego osadu po 2-godzinnem staniu

¹⁾ *St. Serkowski*. O badaniu produktów spożywczych, dostarczanych do szpitali, Łódź, 1902.

²⁾ *St. Serkowski*. Mleko i mleczarstwo, w oświetleniu higieny i bakteriologii, Warszawa, 1907, str. 333 (szczegółowiej opracowany jest dany dział w wydaniu drugim).

w litrowej butelce przezroczystej. Ta próba jest możliwa w zastosowaniu i w domowym gospodarstwie, i w mleczarniach spółkowych dla porównania czystości mleka od poszczególnych dostawców, i nawet jako jedna z prób rynkowych, o ile znajduje się na rynku mała przenośna pracownia sanitarna, gdzie kwalifikują się produkty i skąd wysyłają się do pracowni głównej¹⁾. Wreszcie ta sama próba może być stosowana i w dużej pracowni, mianowicie osad, otrzymany z $\frac{1}{2}$ lub 1 litra mleka, służy



Fot. 1.

Strącanie brudu: butelka z mlekiem w skośnej pozycji na lodzie.

do badania drobnowidzowego i do posiewów (niżka t^o nie zabija znajdujących się bakterii, powstrzymując czasowo ich rozwój), lepiej niż mały osad, jaki otrzymujemy z 5 lub 10 ctm. sz. mleka w przyrządzie Rullmann-Tromsdorffa.

Niekiedy osad w

tej, jak i w następnej próbie niema charakteru brudu, lecz szarawej śluzowato-oślizgłej masy.

Druga próba polega na osadzeniu brudu w zwykłej $\frac{1}{2}$ -litrowej kolbie Erlenmeyera, zakorkowanej korkiem gumowym, pod którym znajduje się gaza, wata lub bibuła. Kolba stoi, jak na fot. 2-ej, szerokim dnem na dół w lodzie w ciągu 2 godzin, dzięki czemu szybko opadający brud pokrywa dno i nie zbiera się na ściankach naczynia, jak to stale bywa w próbie Gerbera i wszystkich innych, gdzie brud skupia się w zwężonej części naczynia. Po 2 godzinach usuwa się ostrożnie z ponad osadu mleko za pomocą większej pipetki (mleko to podlega badaniom chemicznym, fizycznym i biologicznym), a do kolby wlewa się pół litra wody,

¹⁾ Zdrowie 1903 № 1, str. 1.

szczelnie zamyka korek, pokryty gazą lub bibułą na wewnętrznej powierzchni, i ustawia dnem do góry na statywie, jak przedstawiono na tej-
że fotogr. 2-iej. Już po upływie 2 ch godzin biała powierzchnia korka pokrywa się mniejszą lub większą warstwą ciemno-szarego, popielatego osadu, niekiedy ta barwa bywa niejednolita z żółtawym odcieniem.

Z pośród wielu dokonanych badań porównawczych podaję szereg ważniejszych wniosków. Odwróconą kolbę pozostawiając dłużej—do 24 god., zwiększamy warstwę osadu, ale do mikro- i bakte-



Fot. 2.

Strącanie brudu (do dalszego badania).

ryoskopii oraz posiewów należy materiał zbierać wcześniej. Na 1 litr mleka ze sklepików i rynków warszawskich osadza się 6—8 do 12 mgr. (przec.), a z pierwszorzędných mleczarni 1—2.5 (przec.) brudu. Wszystkie te odcienie w danej próbie są słabsze od skali załączonej, maksymalne cyfry otrzymaliśmy w mleku warsz. 50 do 100 mg. — zwykle w mleku z dna bańki, nabywanem po południu. Nie zawsze duża zawartość brudu wskazuje na obecność ropy: po sprawdzeniu drobnowidzowem, z czego dany „brud“ składa się, można ustalić dalszy sposób badania jego, mianowicie w obecności ropy należy poszukiwać bakterii gruźliczych, względnie perliczych, paciorkowców, gronkowców, *b. lactis aerog.*, *proteus vulg.*, przytem uwzględnić też trzeba i *b. typhi* — *paratyphi B.*; W razie bakteryoskopowego stwierdzenia paciorkowców, trzeba różnicować *strept. mastitidis* i *str. agalactiae contag.* od bakterii



Fot. 3.

Przybliżona skala kolorymetryczna brudu, osadzonego z 1 litra mleka.
fot. wł.

kwasu mlecznego—strept. acidi lactici Grot., strept. lacteus Schroeder i str. lactis Kruse. W razie nieobecności ropy przy dużej zawartości brudu główną uwagę skierować trzeba na bakterye peptonizujące tlenowe i beztlenowe.

* * *

Począwszy od Renk'a (Münch. med. W. 1891, 99 i 124), zaprojektowano duży szereg prób do oznaczania brudu w mleku: wszystkie je można podzielić na 2 grupy: metoda kolorymetryczna i metody wagowo-objętościowe. Do pierwszej kategorii należą te próby, których zasada polega na precedzeniu pewnej objętości mleka przez krążek bibuły lub waty o określonej powierzchni filtracyjnej i na porównaniu pozostałej na krążku brudnej plamy z próbkami przygotowanymi jako wzór: zasada ta głównie uwydatnioną jest w przyrządach Henkela (fot. 4), Gerbera i Bernsteina. Pierwszy z nich zastosował zbyt dużą powierzchnię filtracyjną, wskutek czego otrzymane plamy są niewyraźne (spostrzeżenia H. Oltuszewskiej w mojej pracowni), drugi w przyrządach typu z r. 1908 ma zbyt małą powierzchnię i mleko sączy się niesłychanie wolno kroplami; może najwięcej zbliża się do potrzebnej średnicy przyrząd trzeci¹⁾ i filtruje szybciej. Ale i ten, jak i wszystkie inne kolorymetryczne sposoby (nie wyłączając mojego), daje tylko przybliżone wyniki, ponieważ zabarwienie brudu zależy nie tylko od jego ilości ale i od jakości; przytem wata nie zatrzymuje całkowicie brudu i przy powtórznem przefiltrowaniu mleka przez tę samą wata zwiększa się zabarwienie plamy.

¹⁾ Bernstein. Chemiker-Ztg. 1906, 30 str. 441 i Milch-Ztg. 1906, str. 181.

Co do drugiej kategorii prób, większość polega na połączeniu zasady wagowej i objętościowej. Pierwotną próbę *Renka* wykonywano w następujący sposób: z 1 litra mleka w szklanym cylindrze osadzano brud w ciągu 2 godz., potem usuwano mleko pipetką i pozostałe 30 cm sz. uzupełniano do litra wodą. Ten zabieg powtarzał się kilkakrotnie, aż otrzymano osad brudu w czystej wodzie. Brud zbierano na odważonym sączku; po wysuszeniu ważono powtórnie. Przeciętnie próby wykazały brudu w miligr. w mleku rynkowym w różnych miastach: w Halle 14,9 (wahania 2,9—72,5), Berlinie 10,3 (max. 50), Monachium 9,0 (max. 27,9), Lipsku 3,8.

Bersch ¹⁾ dodaje do 1 l. mleka kilka kropel formaliny, rozcieńcza $\frac{1}{2}$ l. wody, osadza 24h, osad wielokrotnie przemywa wodą 8–10 razy, brud zbiera i waży na filtrze Witta.

Spaeth (1900) zbiera osad za pomocą wydrążonego kranu, umieszczonego w dolnej części specjalnego zbiornika o pojemności 1 l.: według tej próby w Hamburgu wykazano tylko w 8% zawartość 25–45 mg., w pozostałych mniejsze ilości, najwięcej, bo 42% = 5.1 do 10 mg.

Stutzer ²⁾ stosuje 1 l. mleka w butelce, połączonej za pomocą rurki gumowej z probówką; z butelki umieszczonej w górze zbiera osad w próbówce w ciągu 1 — 2^h i traktuje dalej, jak w próbie *Renka*. *Bohrisch* i *Beythien* ³⁾ osad przemywają wysokiem i eterem. W przyrządzie *Gerbera* (typ. 1908 r.) takiż sam sposób połączenia butelki z probówką, z tą różnicą, że butelki są półlitrowe bez dna, a dolna część probówki zaopatrzona w podziałkę w celu mierzenia brudu na objętość po 12^h. G. zaleca osad przemyć wodą, odwirować i oznaczyć bądź na objętość, bądź wagowo po wysuszeniu do 100°.

Eichloff ⁴⁾ wiruje 300 ctm. sz. mleka w 8 probówkach (5 min. 2000 obr.); po wypłukaniu wodą i ponownem odwirowaniu, osady przenoszą się do filtru azbestowego, przemywają wodą, suszą i ważą. Samo przemywanie wodą jest niewystarczające: niektórzy autorzy

¹⁾ *Bersch*. Zeitschr. f. Unt. d. Nahr. 1898, 1, 653.

²⁾ *Stutzer*: pierwotne publikacje od 1895, szczegółowy opis w Ztschr. f. Unters. d. Nahr. 1900, 3, str. 320.

³⁾ *P. Bohrisch* i *A. Beythien*. Tamże 1900, 3, str. 319.

⁴⁾ *Eichloff*. Ztschr. f. Unt. d. Nahr. 1898, 1 str. 678.

zalecają traktować osad wyskokiem i eterem (*Bohle*¹⁾, i prócz tego amonjakiem (*Bohrisch i Beythien*²⁾ w celu rozpuszczenia osadu sernika.

Istnieje cały szereg odmiennych prób do oznaczania brudu, polegających na tem, że mleko, przesączając się przez filtr z waty, pozostawia na niej część brudu: próby odnośne autorów różnią się między sobą formą naczynia i powierzchnią filtru: wymienić można przyrządy *Henkel'a* (fot. 4), *Fliegela*, *Ballo* (filtr ze zwilżonej gazy), *Weller'a*³⁾ (filtr papierowy) i in. Pierwszy ma olbrzymią powierzch-



Fot. 4.

Przyrząd Henkela do osadzania brudu na wacie (przez odsączanie).

badacze wprowadzili nowy sposób badania brudu: ich przyrząd osadzający 100 ctm. mleka, zwężony w górnej i dolnej części (dolna część z podziałką do 0.25 od 0.01). w specjalnej pochwie gumowej wiruje się na zwykłej centryfudze Gerbera (10 min. 750 obr. na 1-m), brud osiada na zwężonej części; po zlaniu mleka i wypłukaniu wodą,

nię (9—10 ctm. średnicy) i plamy brudu są niewyraźne. Sposób zaś Weller'a daje cyfry nadmiernie wysokie: autor ten przed filtrowaniem dodaje określoną ilość piasku, z którym osiada razem i brud: różnica w wadze zbiorowego osadu i samego piasku ma wskazywać na ilość brudu, ale osad nieprzemity może zabierać część tłuszczu i sernika, z drugiej zaś strony *Weller*⁴⁾ uważa przemywanie osadu wodą, amonjakiem, wyskokiem i eterem za przeciwskazane z powodu rozpuszczalności samego brudu, pochodzącego w znacznej części z nawozu. *Fendler i Kuhn*⁵⁾ uważają cyfry w próbie Weller'a za 4—10 krotnie zbyt wysokie; a ostatni

¹⁾ *Grosse-Bohle*, tamże 1907, 14 str. 81. ²⁾ *Weller*. Tamże 1905, 10 str. 591 i ³⁾ tamże 1909, 9, str. 309 i 1910 str. 654. ⁴⁾ tamże 1909 str. 513; 1910 str. 13.

osad skłóca się z 15 ctm. sz. 10% amonjaku w ciągu $\frac{1}{2}$ —1 godziny, uzupełnia wodą do 100 ctm., ponownie wiruje i usuwa płyn z ponad osadu nagromadzonego w wąskiej części. Osad ten przenosi się do odważonego tygla Neubauera, przemywa wodą, wyskokiem i eterem i suszy do stałej wagi.

Na mocy odnośnego piśmiennictwa i więcej własnego doświadczenia (w ciągu kilkunastu lat wykonano w mojej pracowni tysiące odnośnych doświadczeń z zastosowaniem różnych metod i prób) doszedłem do następujących wniosków.

Nie istnieje ani jedna próba czy to wagowa, czy to objętościowa, kolorymetryczna lub kombinowana, która dałaby możliwość zupełnie ściślego oznaczenia ilościowego brudu w mleku. Jedne próby wykazują zbyt mało (pr. Gerbera), inne zbyt dużo brudu (pr. Wellerera), trzecie zatrzymują na filtrze tylko część osadu (pr. Balló, Henkela i in.), czwarte przez przemywanie osadów wyskokiem, eterem i amonjakiem usuwają wprawdzie resztki tłuszczu i kazeiny, ale równocześnie rozpuszczają też część samego brudu (pr. Bohrisch-Beythien, Bohle, Fendler-Kuhn); wady pozostałych polegają na tem, że przenoszenie osadów z probówek do tygielka, wreszcie i samo osadzanie w zwężonych probówkach z pozostawieniem części na skośnych ściankach warunkuje utratę części brudu. Poza tem wszystkie te sposoby miały na celu ilościowe oznaczenie brudu bez zastosowania tego strątu do dalszych właściwych badań.

Ponieważ niema próby zupełnie pewnej i ściślej, musimy poprzestać na tych, w których osad zbiera się z większej objętości mleka ($\frac{1}{2}$ —1 l.) stale na jednakowej powierzchni i nie traktuje się płynami dezynf. osadu, który przeznaczony ma być do szczepień. Tym warunkom odpowiada filtracyjna próba Bernsteina i—sądzę—moja kolbowa, która ma jeszcze tę przewagę nad innymi, że osad w mleku nie osiada na ściankach (dolna część szersza) i nie wymaga żadnych przyrządów. Porównawcza skala kolorymetryczna nie zawsze wprawdzie daje możliwość ilościowego porównania (różny skład i niejednakowe zabarwienie brudu), ale wydaje mi się zupełnie wystarczającą do celów sanitarno-praktycznych.

Zresztą przekonałem się wielokrotnie, że nadwyżka brudu (ponad 10 mg.) nie zawsze jest równoznaczną z zakażeniem mleka, że nieraz przy 5 - 10 musimy uznać mleko za szkodliwe i niezdatne i odwrotnie 25 mgr. nie daje jeszcze zasady do odrzucenia

mleka, o ile ten osad nie zawiera ropy i bakterii chorobotwórczych. Przy próbach kolorymetrycznych byłyby wystarczające nawet nie ilościowe, lecz przybliżone określenia: naprz. 0, ślady, brudu średnio, nadmiar, b. dużo—z warunkiem, aby ślady jak i nadmiar brudu badano drobnowidzowo i bakteriologicznie i aby badanie nie opierało się na próbie Rullmann-Tromsdorff'a, lecz na zbadaniu osadu z dużej objętości mleka.



Fot. 5.

Przyrząd Rullmann-Tromsdorffa do „prób leukocytowej“ (fot. nieco powiększ.)
Wszystkie fotografie własne.

Próba niewłaściwie nazwana leukocytową, wprowadzona przez *Rullmanna i Tromsdorff'a*¹⁾, polega na tem, że w specjalnej próbówce (p. fot. 5-ta) wydziela się osad z 5 do 10 ctm. sz. mleka; osad ten ma składać się z leukocytów (?) i wskazywać—o ile przekracza 0,02 (cyfra 2) na przewlekłe zapalenie wymion pochodzenia paciorkowcowego (mastitis streptococica chronica). Uważam daną próbę za zupełnie mylną pod każdym względem, a mianowicie: z 5 lub 10 ctm. sz. mleka niepodobna wyprowadzać wniosku ani o ilości brudu, ani o zawartości leukocytów; osad często zawiera mało leukocytów, lecz dużo zlepków bakterii, kłaczkę białka, fibryny i sernika, i poczęści nawet masy tłuszczowe; bywa niekiedy d. duży osad bez ropy; często w danej próbie powstają dwie warstwy: górna składa się ze zbitej masy kazeinowej, a w dolnej pozostaje nieco mleka, co utrudnia obliczanie. Zapalenie wymion nie zawsze bywa pochodzenia paciorkowcowego: prócz paciorkowców, mogą powodować ten stan i ziarniaki Nocard'a, i gronkowce, i laseczniki okrężnicy i bac. lactis aërogenes (typ Friedländera) i in.

W razie obecności siary otrzymuje się znaczny osad, zupełnie bez udziału bakterii ropotwórczych.

¹⁾ Istnieją zwolennicy tej próby, naprz. *Rühm* (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1906, t. 59 str. 224); ja zaliczam się do jej przeciwników, jak i *Savage* (Journ. of Hygiene 1907, 6 str. 12), *R. Schuppius* (Arch. f. Hyg. 1907, 62 str. 137), którego zdaniem 50% i więcej osadu w rurce Tromsdorffa składa się z tłuszczu—nie z ropy, oraz *Graiz i Náray* (Milchwirt Centralbl. 1912, 41, str. 225).

Z powyższych przyczyn radzę zarzucić zupełnie próbę R. T. 1). natomiast kładę największy nacisk na mikroskopię, bakteryoskopię i bakteryologię osadu, zebranego z *dużej ilości mleka*.

Przy wykonywaniu jednej z prób, stosowanych przezemnie w celu osadzenia brudu do dalszego badania, pozostaje $\frac{1}{2}$ litra mleka, które użyć możemy do innych prób analizy sanitarnej, i między innymi do proponowanej przezemnie próby peptonowej. Badania nad ostatnią ukażą się wkrótce w druku z doświadczeniami współpracownika stud. med. Zawadzkiego, tu podaję tylko kilka słów o celu i metodyce badania. Istnieją grupy bakteryi peptonizujących, zarodnikowych tlenowych i beztlenowych, posiadających b. odporne zarodniki i powodujących peptonizację sernika. Bakterye te w mleku są szkodliwe dla ludzi, zwłaszcza dla dzieci, jak to doświadczalnie stwierdzili *Zuntz i Munk, Pfeiffer* (na sobie samym) oraz *Neumeister*. Po karmieniu mlekiem, zakażonem przez jeden z tych gatunków (*bac. lactis* № 1 Flügge), szczenięta po 24 godz. zapadają na biegunkę i zdychają. Szkodliwy wpływ na ustrój dziecka powoduje się produktem rozkładu kazeiny — peptonem i dalszemi produktami rozkładu białka. Mleko z bakteryami peptonizującymi jest szkodliwe dla niemowląt, a dla osób starszych przy nienormalnym stanie przewodu pokarmowego. Obfite rozmnożenie się tych bakteryi przy wyższej t° w lecie powoduje znaczne biegunki letnie z kolosalną śmiertelnością niemowląt. W etyologii tych stanów stwierdzono też paciorkowce (J. Brudziński, M. Beck), laseczniki okrężnicy oraz bakterye peptonizujące. Zwalczenie kolosalnej śmiertelności niemowląt wymaga najbaczniejszego zwrócenia uwagi na odżywianie dzieci, na co wskazywali nieraz pedyatryzy polscy. Hygiena mleka wymaga zmiany w dotychczasowych sposobach analiz mleka krowiego i kobiecego, które zgoła nie miały nic wspólnego z analizami „sanitarnymi“. W poszukiwaniu nowych sposobów, które—być może—utorują drogę tym zmianom, a przynajmniej do tego dążą, proponuję w sanitarnej analizie mleka, wprowadzenie prób następujących:

1-o. *Próba na pepton*. Wydzielamy serwatkę z mleka, powstałą albo wskutek samoistnego skisania albo przez dodanie kw. octowego, przytem należy wystrzegać się nadmiaru kw. octowego, który tworzy rozpuszczalne albuminaty (ilość dodanego kwasu zależy od stopnia kwasowości mleka, przec. 1—2 krople 10%

CH₃COOH na 10 ctm. mleka). Następnie wykonuje się reakcję ninhydrinową lub biuretową. Ostatnią w nast. sposób: do przesączu po oddzieleniu sernika dodajemy na 10 ctm. przesączu 2 kr. 1% roztw. siarczanu miedzi i 10% ługu do słabo alkal. reakcyi; w obecności peptonu powstaje czerwono-fioletowe zabarwienie. Przy nadmiarze siarczanu miedzi może powstać niebieski kłaczkowaty osad, nie charakt. i maskujący właściwe zabarwienie; w takim wypadku należy osad ten oddzielić. Serwatka winna być wolna od ciał białkowych (warunek niezbędny!); strąceniu ich współdziałać można solą i talkiem lub też odbiałczenie dokonuje się zapomocą dyalizy.

Sprawa obecności i znaczenia peptonu w mleku była dotychczas zupełnie pomijana we wszelkich pracach i monografiach mleczarskich (vide: podręczniki Teicherta, Grimmera, Fleischmanna).— Poważne znaczenie przypisują niedawno dokonany odkryciom t. zw. peptotoksyn, wytwarzanych w podłożach peptonowych przez poszczególne gatunki bakteryi: (*Reichel i Harkins*¹⁾, *Bezredka, Ströbel i Jupille*²⁾. Wobec doniosłej sprawy stosunku peptotoksyn do zjadliwości bakteryi, określanie peptonu w mleku w analizach sanitarnych uważam tembardziej za niezbędne.

2-0. *Próba na kwas masłowy.* Rozpoznanie fermentacyi masłowej można ułatwić przez destylację rozcieńczonego mleka wprost albo parą wodną; w destylacie występuje przytem charakterystyczny zapach zjeżdżonego tłuszczu. Do tego celu 100 ctm. sz. mleka rozcieńcza się jednakową objętością wody i destyluje przez chłodnicę Liebiga. Wydzielić kwas masłowy z destylatu można przez nasycenie go solą.

3-0. *Próba metakazeinowa.* Zjawienie się peptonu niekoniecznie musi być poprzedzone przez wyraźne strącenie i rozpuszczenie sernika. Przekonałem się wielokrotnie, że bakterye peptonizujące posiadają działanie metakazeinowe zwłaszcza przy t^o 37—40°: zjawiają się b. drobne płatki lub kłaczkki już wtedy, gdy cała masa mleka nie podległa jeszcze widocznym zmianom. Te drobne płatki są dobrze widzialne na ciemnem tle lub za pomocą aglutinoskopu

¹⁾ *John Reichel—Malcolm J. Harkins.* „Peptoxin production by the bacillus of contagious abortion of cattle“. Soc. of Amer. Bacter. Centr. f. Bakt. I Orig. 1913, LXIX str. 142.

²⁾ *A. Besredka, H. Ströbel, J. Jupille.* Microbes peptonés et apeptonés. Compt. r. Soc. de Biolog. 1911, t 71, str. 691.

i rozpuszczają się wcześniej, nim wypadnie skrzep parakazeiny. Do badań mleka można zastosować następującą próbę na metakazeinę: po zagotowaniu mleka badanego w próbówce uwydatniają się drobne kłaczkę w mleku, zawierającym bakterye peptonizujące, mleko bez tych ostatnich nie traci swojej jednolitości.

Zjawianie się peptonu w mleku ma miejsce szybko pod wpływem niepożądaných bakteryi; w mleku zaś sterylizowanem lub zawierającym normalne bakterye kwasu mlecznego to zjawisko nie występuje w ciągu tegoż czasu obserwacji (do 2—3 dni 37°). Zapomocą próby peptonowej można rozpoznać mleko z wielu obór warszawskich i podmiejskich już w kilka godzin po udoju, natomiast dobre mleko peptonu nie zawiera. W mleku z jednej z obór warszawskich olbrzymia masa bakteryi gnilnych, peptonizujących wytworzyła i dalsze produkty rozkładowe, co ujawniło się w próbach na atophan, tyrozynę i kwas masłowy.

Proponowane przezemnie sposoby badania, zwłaszcza badanie bakteriologiczne brudu, lecz nie mleka, ma analogię w bakt. jakościowym badaniu wody, które—jak wiadomo—wymaga osadzenia bakteryi przez filtrowanie lub strącenie za pomocą koagulacji: najczęściej zawodne są poszukiwania bakteryi chorobotwórczych w wodzie bez uprzedniego osadzenia. Tę samą zasadę zastosować trzeba i do mleka: do badania mleka na ropę, do bakteryoskopii i posiewów, mających na celu wykrycie bakteryi chorobotwórczych, koniecznem jest badanie nie mleka, lecz osadu—brudu (przez filtrow., centryf. lub osadzanie) *z dużej objętości mleka.*

Celem niniejszego zarysu jest zwrócenie uwagi na rzecz znaną, ale zamało powszechnie akcentowaną: że analiza towaroznawcza nie może zastąpić sanitarnej. Prócz tego pragnę poruszyć sprawę badania brudu, zaprojektować łatwo dostępny sposób, umożliwiający wypełnienie najgłówniejszego zadania, t. j. jakościowego zbadania zawartości brudu—mikroskopowo i bakteriologicznie, nie nadając zbytniego znaczenia ilościowemu oznaczeniu brudu. Wreszcie projektuję określenie w mleku produktów rozkładu białka—peptonu i dalszych, przypisując tym badaniom poważną rolę przy ocenie sanitarnej mleka, zwłaszcza przeznaczonego dla niemowląt.



Biblioteka Główna WUM

KS.1444



210000001444



www.dlibra.wum.edu.pl

SZPITAL IM. KAROLA I MARJI



B 313,

