

*Inchennan Pau Fran H. Kuytawinan  
w dawnej rektorskiej pracowni*

Z. W. JAWORSKI.

*ofiarze*

*przejm.*

# O ROZKŁADZIE MLEKA

POD WPLYWEM PRĄTKA

BACILLUS BUTYRICUS HUEPPE.

Z jedną tablicą.



W KRAKOWIE.

NAKŁADEM AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI.

SKŁAD GŁÓWNY W KSIĘGARNI SPÓŁKI WYDAWNICZEJ POLSKIEJ.

1898.



[www.dlibra.wum.edu.pl](http://www.dlibra.wum.edu.pl)

**NOWSZE WYDAWNICTWA**  
**AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI**  
**WYDZIAŁU MATEMATYCZNO-PRZYRODNICZEGO.**

- Pamiętnik Akademii Umiejętności. Wydział matematyczno-przyrodniczy. Tom XVIII. 4<sup>o</sup>, str. 243, z 27. tablicami i licznymi rycinami w tekście. Cena 5 złr.
- Rozprawy Akademii Umiejętności. Wydział matematyczno-przyrodniczy. Serya II. tom X, ogólnego zbioru tom XXX, 1896, w 8<sup>o</sup> dużej, str. 403, z 12 tablicami i 22 rycinami w tekście. Cena 6 złr.
- E. Bandrowski: O utlenieniu parafenilenodwuaminu, lex. 8<sup>o</sup> str. 13. Cena 20 ct.  
 — O świeceniu podczas krystalizacji, lex. 8-o, str. 8. Cena 10 ct.
- A. Beck: O zmianach ciśnienia krwi w żyłach. lex. 8<sup>o</sup>, str. 40, z 20 rycinami w tekście. Cena 70 ct.  
 — Pomiaru pobudliwości różnych miejsc nerwu za pomocą rozbrojeń kondensatora. lex. 8-o, str. 13. Cena 20 ct.
- A. Beck i N. Cybulski: Dalsze badania zjawisk elektrycznych w korze mózgowej, lex. 8-o, str. 84, z tablicą i 17 rycinami w tekście. Cena 1 złr.
- L. Birkenmajer: Marcin Bylica z Olkusza oraz narzędzia astronomiczne, które zapisał Uniwersytetowi Jagiellońskiemu w roku 1493, z 12 rycinami w tekście lex. 8<sup>o</sup> str. 163. Cena 1 fl. 50 ct.  
 — Wyznaczenie długości wahadła sekundowego w Krakowie, oraz dwóch innych miejscowościach W. Księstwa Krakowskiego, lex. 8-o, str. 68. Cena 80 ct  
 — O wpływie temperatury na ruch zegarów, a zwłaszcza chronometrów, lex 8-o, str. 36. Cena 50 ct.
- Cybulski i Zanietowski: Dalsze doświadczenia z kondensatorami: Zależność pobudzenia nerwów od energii rozbrojenia. lex. 8<sup>o</sup> str. 5. Cena 10 ct.
- B. Dębski: O budowie i mechanizmie ruchów liści u marantowatych. lex. 8-o, str. 109, z dwiema tablicami. Cena 1 złr. 25 ct.
- S. Dickstein: O rozwiązaniu kongruencji  $x^n - ay^n \equiv 0 \pmod{M}$  lex. 8<sup>o</sup> str. 5. Cena 10 ct.  
 — Hoene Wroński, jego życie i dzieła, lex. 8-o, str. 368. Z portretem Wrońskiego i podobizną jego pisma. Cena 4 złr.  
 — Wiadomość o korespondencyi Kochańskiego z Leibnicem, lex 8-o, str. 9. Cena 10 ct.
- B. Eichler i M. Raciborski: Nowe gatunki zielenic. 8<sup>o</sup> str. 11 z tablicą. Cena 20 ct.
- B. Eichler i R. Gutwiński: De nonnullis speciebus algarum novarum. lex. 8<sup>o</sup> str. 17, z 2 tablicami. Cena 40 ct.
- T. Estreicher: Zachowanie się chlorowcowolorów w niskich temperaturach, lex. 8-o, str. 6. Cena 10 ct.  
 — O ciśnieniach nasycenia tlenu, lex. 8-o, str. 18. Cena 25 ct.
- E. Godlewski: O nitryfikacji amoniaku i źródłach węgla podczas żywienia się fermentów nitryfikacyjnych, lex. 8-o, str. 53, z dwiema rycinami w tekście. Cena 60 ct.
- W. Gosiewski: O przekształceniu najprawdopodobniejszym ciała materyalnego. lex. 8<sup>o</sup>, str. 13. Cena 20 ct.
- J. Grzybowski: Otwornice czerwonych itów z Wadowic, lex. 8-o, str. 48, z czterema tablicami. Cena 80 ct.
- J. Talko-Hryniewicz: Zarysy lecznictwa ludowego na Rusi południowej, lex. 8<sup>o</sup> str. 461. Cena 3 złr.
- E. Janczewski: Cladosporium herbarum i jego najpospolitsze na zbożu towarzysze, lex. 8<sup>o</sup>, str. 45 z 4 tablicami. Cena 1 złr.  
 — Zawilce. Część III. lex. 8<sup>o</sup>, str 20, z tablicą. Cena 40 ct. — Część IV. z dwiema tablicami, str. 26. Cena 50 ct.

Z. W. JAWORSKI.

# O ROZKŁADZIE MLEKA

POD WPLYWEM PRĄTKA

BACILLUS BUTYRICUS HUEPPE.

---

Z jedną tablicą.



W KRAKOWIE.

NAKŁADEM AKADEMII UMIEJĘTNOŚCI.

SKŁAD GŁÓWNY W KSIĘGARNI SPÓŁKI WYDAWNICZEJ POLSKIEJ.

1898.

Biblioteka Główna WUM

Br.6350



000027723

# Biblioteka Główna WUM

Osobne odbicie z Tomu XXXV. Rozpraw Wydziału matematyczno-przyrodniczego  
Akademii Umiejętności w Krakowie.

W Krakowie, 1898. — Drukarnia Uniwersytetu Jagiellońskiego, pod zarządem J. Filipowskiego.



# O rozkładzie mleka

pod wpływem prątka *Bacillus butyricus* Hueppe.

Przez

Z. W. Jaworskiego.

~~~~~  
Z tablicą V-tą.  
~~~~~

Wniesiono na posiedzeniu z dnia 4 kwietnia 1893 r.; ref. czł. Adametz.

~~~~~

Bakteryologiczne badania nad fermentacją maślaną datują się od czasu, skoro Pasteur odkrył i opisał „*vibrion butyrique*“, drobnoustrój anaerobiotyczny, pod wpływem którego z soli kwasu mlecznego tworzy się kwas maślny.

Do przeprowadzenia badań nad fermentacją maślaną (I) skłoniły Pasteura pewne obserwacje, jakie mu się nastręczyły podczas wielkopomnych jego prac nad samoródtwem. Podczas tych badań (II) zauważył on mianowicie, że gotowanie nie zabezpiecza mleka od rozkładu; w mleku występują po upływie pewnego czasu zmiany nawet wówczas, jeżeli mleko było przegotowane. Jeszcze przed Pasteurem obserwowano, że niekiedy w mleku przegotowanym sernik się wydziela i powoli rozpuszcza, a tego wydzielenia się sernika nie poprzedza skwaśnienie mleka. Zjawisko to tłumaczono w rozmaity sposób. Tak np. zdaniem Haubnera <sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Zjawisko to nazywa Haubner „das süsse Schlückern“.

(III) jest ono czysto chemicznej natury, zależy od czynników zewnętrznych i może być wywołane także sztucznie. Dopiero Pasteur wyjaśnił te zjawiska, wykazując, że ich przyczyny należy szukać w bardzo opornych na działanie wysokiej temperatury drobnoustrojach, różnych od bakterii fermentacji mlecznej.

W r. 1875 Cohn (IV) znajduje w mleku bakterie identyczne, zdaniem jego, z „vibrion butyrique“ Pasteura. Bakteriom tym przypisywał Cohn wpływ na proces dojrzewania sera.

W r. 1880 ogłosił Adam Prażmowski (V) szczegółowe badania nad *Clostridium butyricum*, drobnoustrojem powodującym fermentację maślaną, ale działania tego drobnoustroju na mleko nie badał.

Od czasu, gdy Koch udoskonalił metodę badań bakteriologicznych przez wprowadzenie pożywek stałych, opisano cały szereg bakterii, które charakteryzowano i klasyfikowano głównie na podstawie cech morfologicznych, wyglądu kolonii, zachowania się ich wobec barwików i t. d., mało przytem uwzględniając stronę fizjologiczną i biologiczną.

Do tej epoki w rozwoju bakteriologii należą prace Hueppe'go nad rozkładem mleka przez bakterie (VI, VII). Z pomiędzy mikrobów, żyjących w mleku, opisuje Hueppe lasecznika, którego nazywa *Bacillus butyricus* i zalicza go do fermentów maślnych na podstawie tego, że w roztworze, zawierającym mlekan, lasecznik ten tworzył kwas maślny. Pierwotnie uważał go Hueppe za nader blisko pokrewny, opisanemu przez Prażmowskiego *Clostridium butyricum*, a to nietylko na podstawie tego, że tworzy kwas maślny, ale także z powodu podobieństwa morfologicznego. Jako cechy, odróżniające *Bacillus butyricus* od *Clostridium*, podnosi Hueppe mniejszą wrażliwość *Bacillus butyricus* na dostęp tlenu, oraz rozpywanie się żelatyny odżywczej pod jego działaniem. Poza tem podaje Hueppe tylko bardzo ogólne wiadomości o chemicznych przemianach, jakim ulega mleko pod wpływem *Bacillus butyricus*; w szczególności podaje on, że przesącz z mleka, rozłożonego przez tę bakterie, okazuje reakcję biuretową; z pomiędzy produktów rozkładu wykazuje Hueppe leucynę, tyrozynę, amoniak. Źródłem kwasu maślnego jest, zdaniem Hueppe'go, kwas mleczny, a raczej jego sole. W pierwszym stadyum rozkładu mleka tworzy się kwas mleczny, a z niego dopiero *Bacillus butyricus* wytwarza kwas maślny.

Hueppe zbadał *Bacillus butyricus* dosyć pobieżnie, nawet jak na ówczesny stan nauki. Słusznie też podnosi to w pracy nad bakteriami mleka Löffler (VIII). Braki w pracy Hueppe'go skłoniły Löfflera do dokładniejszego zajęcia się w r. 1887 fermentem maślnym Hueppe'go. Na podstawie tych studyów zalicza on bakterie Hueppe'go do tej sa-

mej grupy, do której należą *Bacillus mesentericus vulgatus* i *Bacillus liodermos* Flügge (?). Zdaniem Löfflera, kwasy tłuszczowe, występujące pod działaniem *Bacillus butyricus* Hueppe, powstają z soli kwasu mlecznego.

Od czasu, gdy dokładniej poznano bakteryę, rozkładającą białko, dzięki badaniom Flügge'go (IX), Sterlinga (X), Duclaux (XI, XIII), Winklera (XII) i t. d., zapatrywania na fermentację maślną uległy pewnej zmianie. Zwłaszcza podnieść tu wypadła badania Duclaux, uzupełnione przez Winklera (XII) Duclaux wykazał, że niektóre bakteryę, rozkładając w mleku białko (sernik), tworzą z niego kwas maślny (w postaci soli amonowych). Kwas maślny powstaje w tym przypadku jako produkt uboczny rozkładu, a bakteryi, które go wytwarzają, zdaniem Duclaux, za fermenty maślane uważać nie powinniśmy. Oprócz białka, może być także cukier materyałem, z którego się tworzy kwas maślny jako uboczny produkt rozkładu pod działaniem bakteryi. Według zapatrywania Duclaux nie można więc uważać za fermenty maślane wszystkich bakteryi, które wytwarzają kwas maślny, jak to wówczas sądzono, lecz jedynie te, które go wytwarzają jako główny produkt rozkładu. Jako przykład typowej fermentacji maślanej uważa Duclaux (XIV) przemianę mlekanu wapniowego na maślan wapniowy pod wpływem *vibrion butyrique* Pasteura.

Na podstawie dotychczasowych badań nie można jeszcze przeprowadzić dokładnej klasyfikacji drobnoustrojów fermentacji maślanej, a to dlatego, że zbyt mała ich liczba jest dokładnie zbadana [porówn. Baier (XV)]. Można jednak odróżnić dwa typy fermentacji maślanej w ścisłym znaczeniu tego słowa, zależnie od materyału, z którego kwas maślny powstaje:

1. fermentacja, podczas której kwas maślny tworzy się z kwasu mlecznego (wzgl. z mlekanków) [np. *vibrion butyrique* Pasteura, *Clostridium butyricum* Prażmowskiego];
2. fermentacja, podczas której kwas maślny tworzy się z cukru mlecznego [np. *Bacillus saccharobutyricus* (XVI), *Bacillus butyricus* Botkin (XVII)].

W obu przypadkach kwas maślny jest głównym produktem fermentacji. Rozkładów, podczas których kwas maślny powstaje z białka jako produkt uboczny, w ilości małej, w myśl zapatrywań Duclaux, do fermentacji maślanej nie zaliczamy.

Nastęrcza się więc pytanie: czy *Bacillus butyricus* Hueppe jest istotnie fermentem maślnym? — a jeżeli tak, to do której grupy należy?

Według Hueppe'go i Löfflera należałoby zaliczyć *Bacillus butyricus* Hueppe do tej samej grupy, do której należą *vibrion butyrique* Pasteura, oraz *Clostridium butyricum* Prazmowskiego, a to na zasadzie tego, że zdaniem tych badaczy, materyałem, z którego *Bacillus butyricus* wytwarza kwas maślny, jest kwas mleczny. Zasługuje przytem na uwagę, że Hueppe kategorycznie zaprzecza temu, by *Bacillus butyricus* w mleku i w roztworach, nie zawierających mlekanów, wytwarzał kwas maślny. Z drugiej strony wskazane przez Löfflera podobieństwo tego lasecznika do *Bacillus mesentericus vulgatus* przemawiałoby za zaliczeniem go do grupy bakterji, rozkładających białko i wytwarzających nieznaczące tylko ilości kwasu maślnego, jako produkt uboczny rozkładu.

W wielu podręcznikach bakterjologii (XVIII, XIX, XX) *Bacillus butyricus* Hueppe dotychczas jeszcze bywa przytaczany jako typowy, anaerobiotyczny ferment maślny. Autorzy tych podręczników powołują się na pracę Hueppe'go, albo też czerpią wiadomości z pracy Löfflera, w której główne wyniki badań Hueppe'go są streszczone, ale własnych obserwacyj prawie żaden z nich nie dołącza.

Dopiero w nowem wydaniu dzieła Flügge'go „Die Mikroorganismen“ (XXI), opracowanem zbiorowo i wydanem w r. 1897, dr. Kruse, który opracował systematykę bakteryj, zalicza bakterję Hueppe'go zupełnie słusznie do grupy t. zw. laseczników siana („Heubacillen“) i nazywa ją „*Bacillus pseudobutyricus*“, aby tem zaznaczyć, że bakteria ta za właściwy ferment maślny uważaną być nie może.

Wobec postępów, jakie zaszły w bakterjologii od czasu, gdy Hueppe pracę swoją ogłosił, można już było dawno wyprowadzić ten wniosek, jaki podał Kruse, a to na podstawie samego zachowania się *Bacillus butyricus* Hueppe na żelatynie, oraz przez analogię z innymi drobnoustrojami. Kruse też własnych badań nie podaje, lecz opiera się na pracy Löfflera i prawdopodobnie głównie wnioskuje przez analogię.

Pomimo tego, że stosunkowo dosyć wiele zajmowano się lasecznikiem Hueppe'go, nikt dotąd nie zbadał dokładnie produktów, które się wytwarzają w mleku pod jego działaniem. Nieznane też są dokładniej warunki życia tego lasecznika.

Zadaniem pracy niniejszej jest o ile możności dokładne zbadanie przemian, jakie zachodzą w mleku pod działaniem *Bacillus butyricus* Hueppe, oraz bliższe poznanie jego zachowania się wobec tlenu. Badaniami temi pragnęłam się przyczynić do rozproszenia wątpliwości, jakie jeszcze istnieją co do fizjologii tego drobnoustroju.



Kulturę lasecznika otrzymano z zakładu Krála w Pradze <sup>1)</sup>. Doświadczenia rozpocząłem dopiero po stwierdzeniu czystości kultury i skonstruowaniu identyczności z formą, opisaną przez Hueppe'go i Löfflera, przyczem głównie uwzględniłem opis Löfflera (VIII), jako bardziej wyczerpujący.

Przystępując do opisu morfologii i biologii bakterii Hueppe'go, pragnąłbym zaraz na wstępie zaznaczyć, że w pracy niniejszej zestawilem dawniejsze wiadomości o tym laseczniku, oraz że te wiadomości tylko rozszerzyłem i uzupełniłem własnymi spostrzeżeniami. Było to szczególnie pożądane wobec tego, że jak to już poprzednio zaznaczyłem, morfologia i fizjologia tak często przytaczanego *Bacillus butyricus* Hueppe dotychczas dokładnie nie została opisana.

Do obrobienia tego tematu zachęcił mnie prof. dr. L. Adametz, któremu też za jego chętną i łaskawą pomoc wyrażam najgłębsze podziękowanie.

---

Według dawniejszych spostrzeżeń, a mianowicie Löfflera (VIII), Scholla (XX), Kramera (XVIII) i t. d., *Bacillus butyricus* Hueppe jest lasecznikiem 0.39  $\mu$  szerokim, a 2.1—2.5  $\mu$  długim. W pożywkach płynnych i w żelatynie rozplynnionej, zwłaszcza zaś w skórce, powlekającej powierzchnię płynu, lasecznik Hueppe'go tworzy nitki. Nitki te są zazwyczaj wyraźnie członkowane, spotyka się jednak dość często niektóre mniej wyraźnie podzielone na pojedyncze komórki.

Ruchliwość u *Bacillus butyricus* jest dość znaczna, zwłaszcza u bakterii, występujących osobno i podwójnie. Nitki i pasma, złożone z kilku równoległych idących nitek, są zupełnie nieruchome.

Bakteria Hueppe'go wcale nie zachowuje się opornie względem barwików anilinowych i pochłania je bez najmniejszej trudności; lasecznik ten daje się też barwić metodą Gramma.

Wszyscy bakteriologowie, którzy zajmowali się badaniem lasecznika Hueppe'go, potwierdzają zgodnie istnienie u niego zarodników. Podstawę do tego twierdzenia dały ziarna, błyszczące w środku komórki bakterii. Obecność tych ziarn nie jest jeszcze bezwzględnym dowodem istnienia zarodników u pewnej bakterii. Celem lepszego uzasadnienia

---

<sup>1)</sup> Prof. Hueppe, do którego wystosowano list z zakładu hodowli i mleczarstwa Studium rolniczego przy Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie z prośbą o nadesłanie kultury *Bacillus butyricus* Hueppe, oświadczył, że pierwotnej kultury już nie posiada i polecił udać się w tym celu do zakładu Krála.

obecności zarodników, wyróżniłem te ziarenka od reszty komórki bakteryi za pomocą podwójnego barwienia. Zarodniki bakteryj Hueppe'go zabarwiają się doskonale metodą Ziehla na czerwono, a podług metody Ernsta na niebiesko. Zabarwienie ziarn błyszczących u bakteryi bynajmniej jeszcze nie daje zupełnej pewności, że to są rzeczywiście zarodniki; prawdziwym dowodem jest dopiero, jak wiadomo, kiełkowanie. Przeszukując bacznie preparaty z barwionymi zarodnikami, znalazłem bardzo wiele zarodników, kiełkujących w różnych stadiach rozwoju. Kiełkowanie zaczyna się objawiać przez maleńką wypustkę na jednym biegunie zarodnika, czyli że *Bacillus butyricus* kiełkuje biegunowo, podobnie jak *Bacillus anthracis* i *Clostridium butyricum*. Wypustka ta powiększając się, wyrasta w bakteryę, a błona zarodnika odpada i ginie.

*Bacillus butyricus* Hueppe, rosnąc na żelatynie, rozpułnia ją. Jak to już zauważył Fraenkel (XXII), Kramer (XVIII), Eisenberg (XXIII) i inni, szybkość i siła wzrostu zależy w wysokim stopniu od temperatury. Wyższa ciepłota (powyżej  $+16^{\circ}$  C.) przyczynia się do lepszego rozwoju bakteryi Hueppe'go. Według Eisenberga i Kramera optimum temperatury tego lasecznika wynosi od  $+35^{\circ}$  C. do  $+40^{\circ}$  C.

Wypada mi podać przebieg rozwoju kultury kłutej, ponieważ nigdzie nie jest ona wyczerpująco opisana. W kilka dni po zaszczerpieniu [przy wyższej ciepłocie ( $+20^{\circ}$  C.) prędkiej], pojawia się naokoło miejsca ukłucia maleńki rozpułniony lejek, a na jego powierzchni początek przyszłej powłoki wierzchniej. Z czasem lejek powiększa się, stając się coraz bardziej płaski, a rozpułnianie później postępuje dalej ku dołowi przez całą szerokość rurki. W żelatynie rozpułnionej unoszą się białawe kłębki i chmurki bakteryi; skórka, pokrywająca powierzchnię, zaczyna się lekko fałdować. Zauważyłem, że kultury na żelatynie, zawierającej oprócz innych składników odżywczych także cukier, rozwijają się silniej, przyczem bardzo prędko ciemnieją, przybierając barwę czerwono-brunatną; — widocznem więc jest, że cukier przyczynia się do energiczniejszego wzrostu.

Na agarze, zastygłym ukośnie w rurkach, lasecznik Hueppe'go tworzy w kulturze kreskowej szarawą powłokę o charakterze nieco słuzowatym. Po pewnym czasie powłoka ta lekko się fałduje.

Wzrost na ziemniaku jest tak charakterystyczny dla gromady bakteryi rozpułniających, do których należy lasecznik Hueppe'go, że Löffler (VIII) użył kultur tego rodzaju do rozróżnienia trzech bardzo blisko pokrewnych sobie form: *Bacillus mesentericus vulgatus*, *Bacillus liodermos* Flügge (?), *Bacillus butyricus* Hueppe. Tem bardziej więc zwróciłem uwagę na wzrost tej bakteryi na ziemniaku, dla uzyskania

zupełnej pewności, że mam do czynienia rzeczywiście z formą znalezioną przez Hueppe'go. Na ziemniaku pojawia się biaława powłoka w miejscach zakażonych przez *Bacillus butyricus*. Barwa pierwotnie szarawo-biała substancji śluzowatej, staje się z czasem coraz ciemniejsza, aż do odcienia płowo-żółtego [Löffler (VIII), „*reh-braun*“], powierzchnia zaś marszczy się słabo.

Jak wogóle cała morfologia *Bacillus butyricus*, tak też wzrost kolonii nie został dotychczas dokładnie opisany, a z krótkich wzmianek w podręcznikach nie można sobie wyobrazić całego postępu rozwoju kolonii. Właściwie tylko Fraenkel (XXII), Kramer (XVIII) i Eisenberg (XXIII) zamieścili w swych podręcznikach opisy kolonii lasecznika Hueppe'go; opisy te są jednak niewystarczające. Inni bakteriologowie zupełnie nie podają opisu kolonii, a przecież wygląd jej jest ważnym szczegółem do charakterystyki bakterii. Sprawdzając identyczność lasecznika, którego posiadałem kulturę, z bakterią przez Hueppe'go znalezioną, starałem się poznać cały przebieg rozwoju kolonii tej bakterii. Wzrost kolonii tych laseczników, gdy się jeszcze znajdują w głębi żelatyny, postępuje początkowo powoli. Kolonia jest wówczas mała, żółto-szarą kulką (fig. I a, I b), która powiększając się dąży szybko ku powierzchni płyty. Wskutek tego wzrostu, skierowanego głównie ku powierzchni, kolonia przybiera kształt lejcowaty. W tym stadium rozwoju (fig. II a, II b) budowa jest już wyraźnie nitkowata. W miarę zbliżania się do powierzchni żelatyny, zaczyna się silniejszy wzrost kolonii, tworzą się u niej wypustki boczne (fig. III i fig. IV), a pasma stają się zupełnie wyraźne (fig. IV). Po wydobyciu się na wierzch płyty, rozrost postępuje nader szybko, a przez jeden dzień (przy temperaturze 18°—21° C.) powierzchnia kolonii zwiększa się co najmniej w trójnasób (fig. V). Środek kolonii jest ciemno zabarwiony i zawiera grubą warstwę pasm i pętli, które wypełniają rozplynniony lejek. Naokoło takich kolonij widać przy skośnem nastawieniu światła krąg rozplynnionej żelatyny. Szóstego lub siódmego dnia w temp. 18°—21° C. średnica rozplynnionego kręgu dosięga 3—5 mm. Kolonia w odpowiednim powiększeniu jest masą nitek o wiele jaśniejszą jak poprzednio, gdyż z pierwotnego lejka rozpostarła się w całej rozplynnionej żelatynie (fig. VI). Brzegi takiej zupełnie rozwiniętej kolonii posiadają krótkie, nitkowate wypustki, rozchodzące się promienisto dokoła. Po jakimś czasie rozplynnienie zajmuje całą płytę, a kolonie zlewają się razem.

Cały przebieg zmian zewnętrznych, spowodowanych w mleku przez *Bacillus butyricus* Hueppe, chociaż bardzo krótko, był już jednak niejednokrotnie opisany w sposób wystarczająco dokładny i wierny. Mogłem więc tylko potwierdzić zgodność tych opisów z moimi spostrzeże-

niami. Spostrzeżenia te gwoli zupełności opisu, powtarzam. W mleku zakażonem kulturą tego lasecznika pojawia się pod warstwą tłuszczu pasek przejrzysty, blade-żółto zabarwiony, który się coraz więcej rozszerza. Sernik powoli się wydziela, nie ścinając się jednak, i równocześnie rozpuszcza się. Mleko takie po dłuższym czasie zamienia się na przezroczysty płyn barwy żółto-brunatnej, która stopniowo ma coraz ciemniejszy odcień.

O wzroście *Bacillus butyricus* w sztucznych roztworach odżywczych posiadamy niewiele wiadomości. Muszę więc nadmienić, że wzrost tej bakterii w płynach sztucznych jest mniej charakterystyczny niż na pożywkach stałych i w mleku. W płynach, nie zawierających białka ani ciał, mogących je zastąpić do pewnego stopnia np. asparaginy, lasecznik ten rośnie bardzo słabo i skórki nie tworzy; po krótkim czasie wytworzywszy zarodniki, przestaje żyć. *Bacillus butyricus* Hueppe rośnie zupełnie dobrze w płynach, zawierających oprócz innych składników pokarmowych także pepton lub asparaginę; w tych płynach tworzy on skórkę silną. W podobny sposób zachowuje się lasecznik Hueppe'go w bulionie. W pożywce, składającej się z peptonu, cukru i soli mineralnych, widać doskonale, że przemiany chemiczne odbywają się głównie na powierzchni płynu, który tam się najprzód ciemniej zabarwia. Pożywki płynne, zawierające cukier, pod działaniem *Bacillus butyricus* barwią się bardzo ciemno, a nie zawierające cukru zachowują swój pierwotny kolor. Wskazuje to do pewnego stopnia, że cukier nietylko przyczynia się do lepszego rozwoju tej bakterii, o czym już wspomniałem przy opisie kultur żelatynowych, lecz widocznie ulega także głębszemu rozkładowi przez utlenianie.

Z obserwacji innych bakteriologów nad zachowaniem się *Bacillus butyricus* Hueppe w sztucznych pożywkach, należy jeszcze wspomnieć o doświadczeniach Krügera (XXIV), przedsięwziętych okolicznościowo nad zjełczałym masłem. Krüger szczepił lasecznik Hueppe'go na czystym masle, na którym wszelako zaraz ginął.

Najmniej wyjaśnioną stroną fizjologii *Bacillus butyricus* Hueppe stanowi jego zachowanie się względem powietrza. Wyrażano co do tego najrozmaitsze zapatrywania. Hueppe w swych pracach z r. 1884 (VI, VII) nie powiada wprawdzie wprost, że *Bacillus butyricus* jest względnym anaerobem; wynika to przecie z danych, jakie o tym laseczniku przytacza. A mianowicie Hueppe twierdzi, że wyhodowana przez niego bakteria maślna wprawdzie nie ginie w dostępie tlenu, jednakże w braku tlenu bezwarunkowo może żyć i działać <sup>1)</sup>. Pisząc o braku tlenu, Hueppe

<sup>1)</sup> „Diese Bacillen vermögen unstreitig bei Luftabschluss ihre Wirkung auszuüben, werden aber durch den Sauerstoff nicht getödtet“ (VII).

ma widocznie na myśli tylko silne jego rozcieńczenie (słabe ciśnienie cząstkowe), gdyż w dalszym ciągu swej pracy wyraża wątpliwość, czy z u p e ł n e usunięcie dostępu powietrza nie działałoby powstrzymująco na rozwój tego lasecznika. W pracy z r. 1891 Hueppe (XXV) uznaje już swą bakterję maślną za aeroba. W pracy o fermentach maślnych Baier (XV) zalicza *Bacillus butyricus* Hueppe do aerobów; Fraenkel (XXII) twierdzi, że *Bacillus butyricus* żyje nawet w obfitym dostępie tlenu. Löffler (VIII) uważa *Bacillus butyricus* Hueppe za aeroba tak samo, jak inne bakterje rozplyniające żelatynę, jakoto *Bacillus mesentericus vulgatus* i *Bacillus liodermos* Flügge (?). W podręcznikach bakteriologii [np. Günther (XIX), Flügge (XXVI), Jörgensen (XXVII)] i w pracach, w których przytaczano okolicznościowo *Bacillus butyricus* Hueppe [Adamez (XXVIII)], badacze najczęściej zadowalają się ogólnikowym wyrażeniem, że wobec dostępu tlenu ten lasecznik rośnie. Sprawę tę starałem się dokładniej zbadać i w tym celu zwracałem uwagę na każdy szczegół, któryby mógł dostarczyć jakichkolwiek wskazówek, co do zachowania się lasecznika Hueppe'go względem tlenu; oprócz tego przeprowadziłem pod tym względem osobne doświadczenia. Już przy opisywaniu wzrostu w pożywkach płynnych i żelatynowych zaznaczyłem, że działanie *Bacillus butyricus* Hueppe ogranicza się głównie do powierzchni płynu, czyli, że prawdopodobnie dostęp powietrza jest dla niego potrzebny do życia. Dla przekonania się o tem przygotowałem kultury na płytach, z których jedno umieściłem w atmosferze wodoru, drugie zaś trzymałem w zwykłych warunkach (w powietrzu). Na płytach żelatynowych, umieszczonych w atmosferze wodoru, dopiero po dwunastu dniach pokazały się bardzo słabe kolonie; kolonie te rozwijały się powoli. Natomiast żelatyna na płytach, trzymanyh w powietrzu, już po pięciu dniach była w zupełności rozplyniona. Wynik tych doświadczeń potwierdziły jeszcze późniejsze próby, wykonane w kolbie Botkina i w dwu kolbach Pasteura, używanych do badania wzrostu bakterji w płynie, przy możliwie dokładnem usunięciu dostępu powietrza. W kolbach Pasteura dopiero po dwu tygodniach pobytu w termostacie (przy temp. + 35° C.) sernik wydzielił się w kłaczkach w postaci zbitej masy; resztę kolby wypełniał płyn jasno-żółty. Strącenie sernika nastąpiło w obu kolbach Pasteura ściśle po tym samym czasie (t. j. po dwu tygodniach). W kolbie Pasteura, pozostawionej przez trzy miesiące, osad sernika, wydzielony w ten sposób przez *Bacillus butyricus* Hueppe, nie okazał prawie żadnego ubytku przez rozpuszczenie, a płyn zachował swą jasno-żółtą barwę<sup>1)</sup>. W kolbie, sporządzonej wedle systemu Botkina,

<sup>1)</sup> Kolbę tę otworzyłem po trzech miesiącach; przesącz, pozostały po oddzieleniu strąconego sernika, był zupełnie jasny i trochę opalizujący. Odczyn płynu był raczej

sernik wydzielił się w podobny sposób, ale już po sześciu dniach; po trzech miesiącach widać było, że sernik uległ częściowemu rozkładowi, przyczem ciecz przybrała nieco ciemniejszą barwę<sup>1)</sup>.

Z doświadczeń tych wynika, że *Bacillus butyricus* Hueppe jest aerobem ścisłym, gdyż słaby wzrost kolonii w wodorze i chwilowy rozwój w kolbach Pasteura i Botkina można sobie wytłómaczyć obecnością minimalnych ilości tlenu, zawartego w tych kolbach. Tlen jest więc niezbędnie potrzebny dla bakteryi Hueppe'go, aby wywrzeć mogła działanie rozpuszczające na sernik i żelatynę, co stanowi przeciwieństwo charakterystyczny objaw jej życia.

Nadmiar natomiast tlenu nie jest wprost szkodliwy dla *Bacillus butyricus* Hueppe, lecz wpływa powstrzymująco na jego rozwój, ponieważ na płytach i w epruwetach z mlekiem i żelatyną, przez które przepuszczono tlen, lasecznik ten rozwijał się wolniej, niż przy zwykłym dostępie powietrza (przez płyty przepuściłem czysty tlen dwa razy w odstępie trzech dni).

Sprawa przemian chemicznych, spowodowanych w mleku przez *Bacillus butyricus* Hueppe, nie postąpiła wcale naprzód od czasu odkrycia go przez Hueppe'go. Hueppe, a za nim inni bakterjologowie twierdzą kategorycznie, że *Bacillus butyricus* bezwarunkowo nie tworzy w mleku kwasów tłuszczowych, chyba dopiero po zamianie cukru mlecznego na kwas mleczny, a raczej na mlekian wapniowy pod działaniem innych drobnoustrojów (fermenty kwasu mlecznego). Z innych produktów rozkładu mleka, sprawionego przez bakterję Hueppe'go, przytaczaną bywa stale leucyna, tyrozyna, amoniak, pepton (a raczej albumozy), które Hueppe w pracy (VI) z r. 1884 podał był jako główne produkty rozkładu mleka pod działaniem *Bacillus butyricus*. W jaki je jednak sposób oznaczono, o tem niema nigdzie wzmianki. Wiadomem zaś jest, że sposoby oznaczenia leucyny, tyrozyny, peptonu wymagają wiele zachodu, aby przez potwierdzenie za pomocą różnych metod uzyskać zupełną pewność znalezienia tych produktów.

---

słabo kwaśny, aniżeli obojętny. W płynie tym szukałem amoniaku. Ponieważ cieczy nie można było alkalizować (podczas ogrzewania z NaOH powstaje  $\text{NH}_3$  z białka), przeto musiałem się ograniczyć do oznaczenia amoniaku, ewentualnie związanego kwasami. W tym celu przedestylowałem przesącz (około 150  $\text{cm}^3$ ) przy pierwotnej reakcyi. Otrzymany przekrop zalkalizowałem wodnikiem sodowym i poddałem znowu destylacyi. W tym drugim przekropie szukałem  $\text{NH}_3$  za pomocą odczynnika Nesslera. Amoniak nie było ani śladu.

<sup>1)</sup> W kolbie Botkina odczyn płynu był słabo alkaliczny. W przekropie amoniak dał się doskonale wykazać za pomocą odczynnika Nesslera i chlorku platynowego. Częściowy rozkład białka w mleku był umożliwiony wskutek niewielkiej ilości tlenu w kolbie.

Oprócz wspomnianych już można się było jeszcze spodziewać także obecności innych produktów rozkładu mleka. W literaturze, odnoszącej się do *Bacillus butyricus* Hueppe (VI, VII, VIII, XXV i t. d.), nie spotkałem wymienionych żadnych innych produktów rozkładu, oprócz wspomnianych powyżej. Wobec takiego stanu rzeczy nie pozostawało nic innego, jak wykonać systematycznie rozbiór chemiczny mleka, zmienionego przez *Bacillus butyricus*.

Wspomniałem już poprzednio, że *Bacillus butyricus* został zaliczony przez Hueppe'go do bakterii, powodujących fermentację maślną. Za ferment maślny uważają go także autorowie podręczników i prac bakteriologicznych (VIII, XV, XVIII, XXII, XXIV i t. d.). Kwas maślny otrzymywano jednak zawsze tylko w kulturach bulionowych, zawierających mlekan sodowy; jednak niema konieczności, aby w tym przypadku kwas maślny tworzył się właśnie z mlekanu, gdyż nie była tu usunięta możliwość wytworzenia się tego kwasu także ze związków białkowych, zawartych w bulionie. Mimo to Hueppe, a za nim inni bakteriologowie, wnosząc z tego, że *Bacillus butyricus* w bulionie wytwarzał kwas maślny, sądzili, że materiałem, z którego kwas ten się tworzy, są mlekany. Na tej podstawie przypuszczano, że w mleku sterylizowanym kwas maślny pod działaniem tego lasecznika wcale nie powstaje. Hueppe wyraża swoje przekonanie pod tym względem bez zastrzeżeń: „Diese Bakterien vermögen in Folge dessen in sterilisierter Milch keine Buttersäuregährung hervorzurufen, sondern nur dann, wenn der Milchzucker durch andere Bakterien hydratisiert oder milchsaure Salze vorhanden sind“ (VII); w podobny sposób wyraża się Hueppe w pracy z r. 1891 (XXV). Twierdzenie o powstawaniu kwasów tłuszczowych wyłącznie tylko z mlekanoń pod działaniem *Bacillus butyricus* powtarza za Hueppem wielu bakteriologów, jakoto: Günther (XIX), Krüger (XXIV), Adametz (XXVIII), Flügge (XXVI) i t. d.

Ponieważ powyższe zapatrywania nie były poparte ścisłymi dowodami, nie można więc było mieć pewności, czy istotnie materiałem, z którego się tworzy w danym przypadku kwas maślny, są rzeczywiście mlekany, i czy tylko one mogą być tym materiałem. Wobec tego nie można też było uważać za rzecz pewną zupełnie, że, jak twierdzą Hueppe, Günther, Flügge i t. d., w mleku sterylizowanym kwas maślny się nie wytwarza. Wypadało więc fakt ten sprawdzić.

Oto były główne punkty, na które musiałem w szczególności zwracać baczną uwagę podczas badania rozkładu mleka przez *Bacillus butyricus*, oraz podczas badania warunków tego procesu.

W celu przedwstępnego zbadania produktów rozkładu mleka, spowodowanego przez *Bacillus butyricus* Hueppe, przygotowałem 5 litrów

mleka zbieranego. Mleko po czterokrotnem wysterylizowaniu na wolnym ogniu, pozostawiłem przez dwa tygodnie w termostacie (+ 35° C.), w celu potwierdzenia dokładności sterylizacji. Dopiero po uzyskaniu zupełnej pewności, że mleko zostało dokładnie wyjałowione, zaszczerpiłem *Bacillus butyricus* z trzeczdniowej kultury na mleku. Po zaszczerpieniu trzymałem mleko w termostacie (+ 35° C.) przez tydzień, w celu przyspieszenia rozwoju lasecznika, a potem przez miesiąc w temperaturze pokoju 20°—22° C. Mleko zmienione przez działanie bakterji Hueppe'go po upływie pewnego czasu ciemnieje i staje się przezroczyste<sup>1)</sup>. Odczyn mleka, zrazu niezmieniony, w miarę postępowania rozkładu przechodzi w alkaliczny.

Do przeprowadzenia przedwstępnej analizy użyłem około 800 cm<sup>3</sup> mleka, zupełnie już rozłożonego pod wpływem *Bacillus butyricus*. Przedewszystkiem stwierdziłem w badanem mleku czystość kultury za pomocą preparatów mikroskopowych. Następnie zwróciłem się w pierwszym rzędzie do zbadania produktów lotnych rozkładu mleka. W tym celu przesaczyłem około 300 cm<sup>3</sup> rozłożonego mleka (którego odczyn był alkaliczny) i przesącz poddałem destylacji. Otrzymany w ten sposób przekrop alkaliczny dawał silny odczyn na amoniak; NH<sub>3</sub> wykazywałem za pomocą chlorku platynowego i odczynnika Nesslerera. Obecność amoniaku nie ulegała zresztą żadnej wątpliwości, bo stwierdził ją już Hueppe, a za nim inni bakterjologowie. Aby się przekonać o obecności innych produktów lotnych, np. alkoholi, zwiazałem amoniak, znajdujący się w przekropie rozcieńczonym kwasem szczawiowym, poczem plyn został poddany destylacji. Otrzymany w ten sposób przekrop, nie posiadał żadnego wybitnego zapachu, dawał natomiast na alkohole wyraźnie jodoformową próbę Liebena i słabiej odczyn z dwuchromianem potasu z kwasem siarkowym. Powyższe próby wskazywały zatem na obecność alkoholi, lub produktów blisko im pokrewnych.

Ponieważ wobec silnego rozkładu białka pod wpływem *Bacillus butyricus* Hueppe można się było spodziewać choćby w małej ilości produktów gnilnych, aby się więc o tem przekonać, użyłem do badania pod tym względem 300 cm<sup>3</sup> płynu. Próbę tę przerobiłem w sposób, podany w podręczniku Hoppe-Seylera<sup>2)</sup>. Płyn oddestylowałem przy własnej, alkalicznej reakcji. Otrzymany przekrop został zalkalizowany ługiem potasowym, poczem poddałem go destylacji. W otrzymanym prze-

<sup>1)</sup> Mleko, zmienione przez działanie *Bacillus mesentericus vulgatus*, pozostaje mętne [porówn. Löffler (VIII)].

<sup>2)</sup> Handbuch der physiologisch-chemischen Analyse. F. Hoppe-Seyler. Berlin 1895 (S. 158, S. 478).



kropie szukałem indolu i skatolu. Obecność indolu i skatolu nie dała się wykazać ani za pomocą kwasu azotowego, zawierającego kwas azotawy, ani też za pomocą mieszaniny kwasu pikrynowego z kwasem solnym. Aby uwolnić fenole, które się mogły znajdować w cieczy, zakwasiłem kwasem siarkowym alkaliczną pozostałość destylacji na indol i skatol; tę pozostałość powtórnie destylowałem celem oddzielenia ewentualnie zawartych w niej fenoli. W otrzymanym w ten sposób przekropie odczynnik Millona dawał słabe zabarwienie i nieznaczny, czerwony osad. Na podstawie tej próby można przypuścić, że jeżeli fenole powstają rzeczywiście w mleku, zmienionem przez *Bacillus butyricus*, to jednak znajdują się tylko w minimalnej ilości.

Chcąc nabrać lepszego wyobrażenia, jakie ilości alkoholu wytwarzają się podczas rozkładu mleka przez *Bacillus butyricus* Hueppe, do powtórnego przerobienia użyłem w tym celu większej ilości mleka, mianowicie 900 cm<sup>3</sup>. Płyn przesączony oddestylowałem przy odczynie alkalicznym. W przekropie mogły się znajdować alkohole oraz amoniak, związany częściowo z kwasami tłuszczowymi, lotnymi. Otrzymany przekrop zakwasiłem rozcieńczonym kwasem szczawiowym w celu związania amoniaku. Przekrop ten poddałem powtórną destylacji. Otrzymany w ten sposób drugi przekrop mógł zawierać tylko obojętne produkty lotne, oraz część kwasów tłuszczowych, najbardziej lotnych. Przez związanie tych kwasów wodnikiem sodowym i przedestylowanie otrzymałem trzeci przekrop o odczynie obojętnym, zawierający już same tylko ciała lotne. Aby produkty lotne obojętne silniej zagęścić, otrzymany przekrop poddałem jeszcze raz destylacji, posługując się przytem rurką Linne-mana. Destylatu otrzymałem 80 cm<sup>3</sup> o słabym zapachu; oznaczony za pomocą piknometru ciężar właściwy płynu odpowiadał ilości alkoholi 0.0036 gr. w 900 cm<sup>3</sup> płynu. Odczyny jakościowe, t. j. Liebena i z dwuchromianem potasu z kwasem siarkowym wypadły tym razem już zupełnie wyraźnie.

Na podstawie tych wyników badania twierdzić można, że otrzymane produkty lotne zawierały prawdopodobnie alkohole, a więc w każdym razie można wnosić, że podczas rozkładu mleka za pośrednictwem *Bacillus butyricus* wytwarzają się w małej ilości alkohole, lub inne produkty lotne.

Pozostałość od pierwszej destylacji o reakcyi alkalicznej zakwasiłem kwasem szczawiowym i poddałem ponownej destylacji z parą wodną. Przekropu otrzymałem około 350 cm<sup>3</sup>, posiadał on odczyn kwaśny, zapach jednak nie był wyraźnie tłuszczowy. Z przekropu wzięłem dwie próby po 150 cm<sup>3</sup> i zobojętniłem zawarte w nich kwasy wodnikiem barowym. Nadmiar baru wydzieliłem przez przepuszczenie bezwo-

dnika węglowego i odsączenie (po uprzednim zagotowaniu) powstałego osadu węglanu barowego. Pozostały zupełnie obojętny roztwór soli kwasów tłuszczowych odparowałem prawie do suchości, przyczem wydzieliły się kryształy soli barowych kwasów tłuszczowych. Kształt tych kryształów wskazywał<sup>1)</sup> na obecność kwasu masłowego i jakiegoś drugiego kwasu, którego z postaci kryształów nie było można dokładnie oznaczyć. Jednak na oznaczeniu w ten sposób rodzaju kwasów tłuszczowych nie można było jeszcze zupełnie polegać. Pierwotnie zamierzałem użyć obu próbek do zbadania rodzaju kwasów tłuszczowych przez oznaczenie ilości baru w solach tych kwasów; ponieważ jednak soli tych było niewiele, więc rozpuściwszy kryształy połączyłem obie próbki i użyłem ich do zwykłych jakościowych oznaczeń kwasów tłuszczowych za pomocą stosownych odczynników. Chlorek żelazowy, dodany do roztworu soli barowych, wywoływał zabarwienie czerwone, a po zagotowaniu powstawał w nim osad żółty; azotan srebrowy sprawiał w roztworze tych soli osad biały, a po zagotowaniu następowała słaba redukcya srebra. Zagęszczony roztwór soli barowych po zakwaszeniu rozcieńczonym kwasem siarkowym posiadał wyraźny zapach kwasu octowego z przymieszką kwasu maślnego.

Wynik tych prób jakościowych czyni prawdopodobną obecność kwasu octowego i śladów kwasu mrówkowego, nadto nie można wątpić o znajdowaniu się także kwasu maślnego.

Obecność kwasów tłuszczowych w mleku sterylizowanem, zmienionem przez *Bacillus butyricus* Hueppe, nie ulega zatem żadnej wątpliwości wbrew zdaniu Hueppe'go i innych bakterjologów. Chociaż próby były wykonane tylko w małych rozmiarach, są jednak aż nadto wystarczające do stwierdzenia obecności kwasów tłuszczowych w mleku, rozłożonem przez lasecznik Hueppe'go. Do sprawy tworzenia się kwasów tłuszczowych w mleku przez działanie *Bacillus butyricus* powrócę jeszcze w dalszym ciągu pracy.

Po przeprowadzeniu podanych powyżej badań wstępnych, zwróciłem się do dokładniejszego badania produktów rozkładu mleka.

Aby za pomocą ilościowych oznaczeń dać lepszy obraz rozkładu mleka, przeprowadziłem analizę ważonej ilości mleka o oznaczonym składzie chemicznym. W tym celu przygotowałem trzy kolby dwulitrowe, zawierające razem 4821.94 gr. mleka. Mleko to było dokładnie odtłuszczone za pomocą centryfugi „Alfa-Baby Separator“ de Laval'a i rozcieńczone wodą w takiej mierze, aby uzupełnić stratę wody przez pa-

<sup>1)</sup> *Traité général d'analyse de beurres*. A. J. Zune. Paris 1887.

rowanie podczas sterylizacji. Dodanie wody miało na celu utrzymanie w przybliżeniu naturalnej koncentracji mleka.

Analiza chemiczna mleka zbieranego i rozcieńczonego wodą dała następujący rezultat:

|                    |         |
|--------------------|---------|
| tłuszczu . . . . . | 0·100%  |
| popiołu . . . . .  | 0 604%  |
| cukru . . . . .    | 4·672%  |
| białka . . . . .   | 2·610%  |
| wody . . . . .     | 92·012% |
| Razem . . . . .    | 99·998% |

Białko obliczyłem z ilości azotu, oznaczonego za pomocą metody Kjeldahla<sup>1)</sup>, cukier mleczny zaś oznaczyłem na wagę. Zawartość tłuszczu oznaczyłem w centryfugalnym aparacie Gerbera (Gerber's Acid-butyrometer).

Mleko poddałem frakcyonowanej sterylizacji (sześciokrotne gotowanie) na wolnym ogniu i zostawiłem dla kontroli na trzy letnie miesiące w temperaturze pokoju. Ponieważ mleko po upływie tego czasu się nie zmieniło, mogłem więc mieć dostateczną pewność zupełnego wyjałowienia. Do szczepienia użyłem tygodniowych kultur w mleku. Po zakażeniu pozostawało mleko przez tydzień w termostacie, a potem w temperaturze pokojowej 18°—22° C. Gdy sernik już uległ zupełnemu rozpuszczeniu, t. j. po dwu miesiącach, odważyłem dokładnie kolbę wraz z cieczą, która miała być użyta do analizy.

Oznaczeń ilościowych w mleku, zmienionem przez *Bacillus butyricus* Hueppe, w literaturze mikrobiologicznej nie znajdujemy; wskutek tego niektóre twierdzenia nie są poparte należytymi dowodami. Między innymi Hueppe (VII) zaprzecza stanowczo, żeby *Bacillus butyricus*, żyjąc w mleku, rozkładał cukier. Inni bakteryologowie zaznaczają tylko, że lasecznik Hueppe'go z cukru mlecznego nie tworzy kwasu maślnego. Ponieważ nikt nie poparł dowodami twierdzenia Hueppe'go, że cukier nie ulega bynajmniej rozkładowi pod działaniem *Bacillus butyricus*, chcąc się więc przekonać, o ile to twierdzenie jest uzasadnione, dokonałem oznaczenia ilości cukru w mleku, zmienionem przez tę bakterję, a którego pierwotna zawartość cukru była mi już znana. Wziąłem trzy próby z mleka, które stało dwa miesiące i było zupełnie już rozłożone przez działanie lasecznika Hueppe'go. Strata na ciężarze wskutek odparowania wody wynosiła 5·22%.

<sup>1)</sup> Za mnożnik przy przeliczeniu zawartości azotu na sernik przyjęto 6·25.

|      |              |              |         |           |
|------|--------------|--------------|---------|-----------|
| Waga | I-szej próby | wynosiła . . | 22·7785 | gr. mleka |
| "    | II-giej      | " " . .      | 31·1615 | " "       |
| "    | III-ciej     | " " . .      | 46·7132 | " "       |

Aby oznaczyć ilościowo cukier, wypadło przedewszystkiem usunąć białko. W tym celu strąciłem białko na gorąco alkoholem absolutnym w takiej ilości, że stężenie alkoholu wynosiło ostatecznie około 55—60%<sup>1)</sup>. Zebrany na sączku osad białka przemyłem 60% alkoholem. W przesączu strąciłem resztę białka kwasem fosforowo-wolframowym. Powstały osad, zebrany na sączku, przemyłem mieszaniną tegoż kwasu z kwasem siarkowym. W przesączu strąciłem kwasy za pomocą wodnika barowego i odsączyłem powstały osad. Nadmiar baru w przesączu wydzieliłem przez przepuszczenie bezwodnika węglowego i odsączenie osadu węglanu barowego po poprzednim zagotowaniu płynu. Przemywszy osad dokładnie, przekonałem się za pomocą kwasu siarkowego, że cała ilość znajdującego się w przesączu baru, została usunięta. Kwas siarkowy zobojętniłem węglanem sodowym. Rozcieńczony wskutek częstych przemywań płyn sprowadziłem przez odparowanie w obu pierwszych próbach do objętości 500 cm<sup>3</sup>, a w trzeciej do 1000 cm<sup>3</sup>. Wagę cukru oznaczyłem w 100 cm<sup>3</sup> roztworu. Na 100 gr. mleka rozłożonego przez lasecznik wypadło:

|          |       |        |       |
|----------|-------|--------|-------|
| I. próba | . . . | 2·498% | cukru |
| II. "    | . . . | 2·490% | "     |
| III. "   | . . . | 2·452% | "     |
| Średnio  | . . . | 2·480% | "     |

Licząc na 100 gr. mleka świeżego, otrzymujemy cukru 2·357%. Ponieważ ilość cukru pierwotnie wynosiła 4·672%, strata więc równa się 2 315%.

Oznaczenie ilościowe cukru w mleku, rozłożonem przez *Bacillus butyricus* Hueppe, wykazało, wbrew zdaniu Hueppe'go i innych bakteriologów, że cukier mleka ulega częściowemu zużyciu podczas procesu życia tego lasecznika. Należy przypuścić, że prawdopodobnie następuje w tym przypadku tylko proste spalanie cukru wobec dostępu tlenu. Już na początku wspomniałem bowiem, że pożywki, zawierające cukier, barwią się po krótkim czasie na kolor czerwono-brunatny, podczas gdy inne, nie zawierające cukru, zachowują swą pierwotną barwę.

<sup>1)</sup> 1 gr. cukru mlecznego rozpuszcza się w 58·00 cm<sup>3</sup> alkoholu 0·941 przy 15·5° C.

Cukier wpływa także wyraźnie na silniejszy wzrost lasecznika Hueppe'go. Nadto zwłaszcza następujące okoliczności przemawiają za tem, że cukier ulega głębszemu rozkładowi prawdopodobnie tylko przez utlenienie pod wpływem lasecznika Hueppe'go. Mianowicie mleko, zawarte w kolbie Pasteura (bez dostępu powietrza) i zmienione przez bakterję Hueppe'go, nie przybrało bynajmniej ciemniejszej barwy nawet po dłuższym czasie; w kolbie Botkina z powodu zawartej małej ilości powietrza mleko rozłożone zabarwiło się ciemniej pod wpływem tejże bakterji (str. 10).

Oprócz straty cukru, oznaczyłem także ilość amoniaku wolnego w mleku, rozłożonem przez *Bacillus butyricus* Hueppe. Amoniak oznaczyłem w trzech próbach:

|                            |                 |       |           |                 |
|----------------------------|-----------------|-------|-----------|-----------------|
| Waga I-szej próby wynosiła | 230.7 g. mleka, | w tem | 0.0026 ‰  | NH <sub>3</sub> |
| „ II-giej „ „              | 216.0 „ „       | „     | 0.0028 ‰  | „               |
| „ III-ciej „ „             | 235.5 „ „       | „     | 0.0029 ‰  | „               |
|                            | Średnio . . . . |       | 0.00276 ‰ | NH <sub>3</sub> |

Mleko zawierało zatem 0.0027 ‰ amoniaku, co odpowiada w mleku świeżem 0.0025 ‰ NH<sub>3</sub>, czyli 0.0125 ‰ sernika<sup>1)</sup>, a to równa się 0.44 ‰ całej zawartości białka, która wynosi w mleku świeżem 2.61 ‰. Ilość wywiązującego się amoniaku jest prawdopodobnie w sumie nieco większa, ponieważ znaczna część NH<sub>3</sub> musi się ulatniać podczas procesu rozkładu mleka. W tym przypadku oznaczyłem oczywiście tylko wolny amoniak zaabsorbowany przez płyn.

Do oznaczenia kwasoty destylatu brałem średnio około 235 g. płynu (średnia z trzech prób). Mleko rozłożone przez lasecznik Hueppe'go zakwasiłem kwasem szczawiovym i destylowałem bez przepuszczania pary wodnej, aż do możliwie największego zagęszczenia płynu, t. j. oddestylowałem około dwóch trzecich całej objętości płynu. Destylatu otrzymałem średnio około 140 cm<sup>3</sup>. Do zobojętnienia kwasów, zawartych w przekropie, zużyłem średnio 8.15 cm<sup>3</sup>  $\frac{1}{10}$  n. wodnika sodowego, t. j. na 100 cm<sup>3</sup> destylatu wypada 6.323  $\frac{1}{10}$  n. NaOH, odpowiada to zawartości 0.0379 g. kwasu octowego.

Jak wiadomo, próby jakościowe na kwasy tłuszczowe nie dają jeszcze zupełnej pewności, jakie kwasy są obecne w przekropie i które z nich znajdują się w przeważającej ilości. Aby więc rozstrzygnąć w przybliżeniu, jakie kwasy tłuszczowe są zawarte w przekropie, przeprowadziłem je zwykłą metodą w sole barowe i oznaczyłem zawartość

<sup>1)</sup> Przy przeliczaniu zawartości azotu na sernik, przyjęto za mnożnik liczbę: 6.25.

węglanu barowego w tych solach. Użyłem w tym celu całej ilości mleka, jakie było wogóle do rozporządzenia, t. j. 4465 g. Zubożniejszy amoniak kwasem szczawiowym, oddestylowałem ciecz. W przekropie, zagęszczonym przez kilkakrotną destylację, ponownie oznaczyłem alkohole, których ilość wynosiła 0.015 g. w 4465 g. mleka rozłożonego. Pierwotną pozostałość od destylacji zakwasiłem kwasem szczawiowym i destylowałem, przepuszczając parę wodną. Przekropu otrzymałem 1924 cm<sup>3</sup>; z tego wzięłem dwie próby po 973 cm<sup>3</sup> i przeprowadziłem w sole barowe. Aby te sole oczyścić, cztery razy je przekrystalizowałem, rozpuszczając w wodzie gorącej.

Z pierwszej próby, którą użyłem w całości (973 cm<sup>3</sup> przekropu), po ostatecznym odparowaniu i wysuszeniu do stałej wagi w suszarce wodnej, otrzymałem 1.5590 g. soli barowych; w tem węglanu barowego 1.1257 g. czyli 72.213%. Zawartość węglanu barowego oznaczyłem wprost przez wyżarzenie soli w tyglu platynowym.

Drugą próbę (973 cm<sup>3</sup> przekropu) rozdzieliłem na dwie części. Pierwszą zagęściłem nieco przez podparowanie, poczem strąciłem kwasy tłuszczowe za pomocą azotanu srebrowego. Sole srebrowe po wysuszeniu rozdzieliłem na dwie części i oznaczyłem zawartość srebra przez wyżarzenie w tyglu porcelanowym.

- I. część ważyła 0.2865 g., zawierała 0.1749 g. Ag. czyli 61.04%  
 II. " " 0.5495 " " 0.3310 " " " 60.23%

Srednio zawierały sole srebra 60.635% Ag.

Zarówno powyższe liczby, jakoteż liczby uzyskane poprzednio z oznaczeń baru w solach barowych, odpowiadają w przybliżeniu kwasowi propionowemu <sup>1)</sup>, ale obecności jego jeszcze nie dowodzą; liczby te mogłyby również odpowiadać mieszaninie kwasu maślnego i octowego, albo mieszaninie kwasu propionowego i octowego. To też żeby dokładniej wyjaśnić tę sprawę, spożytkowałem drugą część drugiej próby (patrz wyżej), którą przerobiłem w sposób następujący <sup>2)</sup>. Po odparowaniu soli barowych do suchości, traktowałem je alkoholem 97%, wskutek tego otrzymałem alkoholowy roztwór soli tłuszczowych; pozostałe zaś sole nierozpuszczalne w alkoholu rozpuściłem w wodzie gorącej.

Pierwszą próbę po odparowaniu alkoholu rozpuściłem w wodzie, poczem po wysuszeniu do stałej wagi oznaczyłem ilość węglanu baro-

<sup>1)</sup> Propionianowi barowemu odpowiada 69.611% BaCO<sub>3</sub>, propionianowi srebrowemu odpowiada 59.80% Ag.

<sup>2)</sup> Zune I, c. S. 247—259.

wego, pozostałego po wyżarzeniu. Soli rozpuszczalnych w alkoholu było 0·1392 g. czyli 15·6<sup>0</sup>/<sub>0</sub>, zawartość węglanu barowego wynosiła 0·0874 g., t. j. 63·50<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Liczba ta prawie w zupełności odpowiada kwasowi maślnemu, którego soli barowej odpowiada 63·312<sup>0</sup>/<sub>0</sub> BaCO<sub>3</sub>.

Druga próba zawierała sole nierozpuszczalne w alkoholu w ilości 0·6852 g., w tem węglanu barowego 0·5198 g., t. j. 75·86<sup>0</sup>/<sub>0</sub>. Liczba ta jest bardzo zbliżona do liczby kwasu octowego, którego soli barowej odpowiada 76·94<sup>0</sup>/<sub>0</sub> BaCO<sub>3</sub>.

Resztę destylatu, w którym kwasy tłuszczowe zostały przeprowadzone w sole barowe, odparowałem do suchości i wyciągnąłem alkoholem. Pozostałość nierozpuszczalna w alkoholu, zakwaszona kwasem siarkowym, posiadała zapach czystego kwasu octowego; wyciąg zaś alkoholowy po odparowaniu alkoholu i dodaniu kwasu siarkowego dał charakterystyczny zapach kwasu maślnego.

Wobec tych wyników badania można twierdzić teraz z wszelką pewnością, że *Bacillus butyricus* Hueppe wytwarza w mleku sterylizowanym kwasy tłuszczowe. Kwasy te występują w postaci soli amonowych, a obecność ich da się stwierdzić przez destylację dopiero po zakwaszeniu płynu. Przybliżony rozbiór wykazuje mieszaninę kwasów tłuszczowych, a głównie octowego i maślnego.

Podobnie obecność nie czystego kwasu maślnego, lecz mieszaniny kwasów tłuszczowych, przypuszczał Löffler w destylacie z pożywki bulionowej, zawierającej mleczan sodowy <sup>1)</sup>. Löffler jednak kwasów tych dokładniej nie zbadał. Za źródło kwasów tłuszczowych uważał on przytem mleczany, a tworzeniu się ich w mleku sterylizowanym pod wpływem *Bacillus butyricus* przeczył zarówno, jak inni bakterjologowie.

Znalezienie kwasów tłuszczowych w mleku, rozłożonym przez *Bacillus butyricus* Hueppe, następuje jednak nowe, niemniej ważne pytanie, z jakiego materiału się one tworzą. Jak już kilkakrotnie wspomniałem, Hueppe, a za nim inni badacze uważają, że materiałem, z którego powstają kwasy tłuszczowe pod wpływem *Bacillus butyricus* Hueppe, są jedynie mleczany. Teraz wobec znalezienia kwasów tłuszczowych w mleku sterylizowanym, rozłożonym przez lasecznik Hueppe'go, twierdzenie to traci podstawę i trzeba szukać innego źródła tych kwasów. Najłatwiej można rozstrzygnąć pytanie, z czego się tworzą kwasy tłu-

<sup>1)</sup> „Sämtliche Lösungen gaben ein saures Destillat, welches einen an Buttersäure erinnernden, jedoch keinen reinen Buttersäuregeruch darbot. Wahrscheinlich handelte es sich um Gemische von Buttersäure und anderen niederen Fettsäuren“. Löffler (VIII).

szczowe w mleku pod wpływem lasecznika Hueppe'go, przez hodowlę w różnych pożywkach, z których każda zawiera jeden tylko taki składnik, z którego się mogą tworzyć kwasy tłuszczowe. Wobec równoczesnej obecności obok siebie materij białkowych i mleczanów powstaje zupełnie uzasadniona wątpliwość co do źródła kwasów tłuszczowych. Sprawę tę spróbowałem rozwiązać na razie przez hodowlę w pożywe, składającej się z soli mineralnych i 5% peptonu; przygotowałem jej 600 cm<sup>3</sup> w trzech kolbach. Barwa pożywki nie uległa żadnej zmianie podczas rozwoju lasecznika. Po dwóch miesiącach odczyn płynu pierwotnie obojętny zamienił się na alkaliczny. Przekrop, otrzymany przez destylację po zakwaszeniu płynu kwasem szczawiowym, posiadał odczyn kwaśny. Reakcyje jakościowe na kwasy tłuszczowe wypadły zupełnie tak samo, jak w destylacie z mleka, rozłożonego przez *Bacillus butyricus* Hueppe. Ponieważ pożywka, zawierająca białko i sole mineralne, posiada oczywiście tylko jedno możliwe źródło kwasów tłuszczowych, a więc w tym płynie kwasy te mogły jedynie powstać wskutek dalszego rozkładu materij białkowych (peptonu i albumoz) przez działanie lasecznika Hueppe'go.

W innej pożywe zastąpiłem materje białkowe przez 0.25% asparaginy, nadto dodałem oprócz soli mineralnych także 1.5% kwasu mlecznego, który zobojętniłem węglanem sodowym. Po dwu miesiącach odczyn płynu był alkaliczny. Przekrop otrzymany przez destylację po zakwaszeniu kwasem szczawiowym, posiadał odczyn słabo kwaśny i dawał reakcyje jakościowe na kwasy tłuszczowe.

Z faktu tego nie można jednak wnosić, że materiałem, z którego się tworzą pod działaniem bakterij Hueppe'go kwasy tłuszczowe, jest rzeczywiście kwas mleczny, a to dlatego, że jest również bardzo możliwe, iż powstają one z asparaginy; to drugie przypuszczenie jest nawet o wiele prawdopodobniejsze.

W sztucznych roztworach mineralnych, zawierających kwas mleczny, *Bacillus butyricus* Hueppe rośnie słabo. Używałem rozmaitych kombinacyj soli, lecz ani razu nie zauważyłem, aby się ten lasecznik dobrze rozwinął w roztworach ściśle mineralnych, zawierających mleczany lub cukier.

Najlepiej stosunkowo rozwinął się lasecznik Hueppe'go w płynie składającym się:

|         |                     |
|---------|---------------------|
| 0.20 g. | fosforanu amonowego |
| 0.18 "  | " " potasowego      |
| 0.10 "  | siarkanu magnowego  |
| 0.30 "  | " " amonowego       |



0·20 g. siarkanu wapniowego  
 0·80 „ chlorku amonowego  
 0·20 „ „ sodu  
 0·50 „ węglanu wapniowego  
 kropla chlorku żelazowego  
 30·00 g. kwasu mlecznego  
 2000·00 „ wody.

Kwas mleczny zobojętniłem dokładnie węglanem sodowym. Po zaszczepleniu *Bacillus butyricus* z kultury żelatynowej, znajdowałem w preparatach formy wegetatywne lasecznika jeszcze po dwu tygodniach pobytu w termostacie (+ 35° C.). Po pięciu miesiącach (dwa w termostacie) oddestylowałem płyn po zakwaszeniu go kwasem szczawiowym. Przekrop otrzymałem obojętny. Wobec tego można sądzić, że *Bacillus butyricus* Hueppe z mleczanów prawdopodobnie nie tworzy kwasów tłuszczowych.

Zresztą słaby i krótkotrwały rozwój lasecznika Hueppe'go w pożywkach ściśle mineralnych, zawierających jednak mleczały, lub cukier, wskazuje, że powyższe związki organiczne wobec braku ciał białkowych nie wystarczają mu do życia i wskutek tego rozkładowi nie ulegają.

Po zbadaniu lotnych produktów rozkładowych uleka zrobiłem rozbiór pozostałości od destylacji na kwasy tłuszczowe w sposób następujący:

Pozostałość od destylacji podparowałem do tego stopnia, że 200 cm<sup>3</sup> płynu odpowiadało mniej więcej 1000 cm<sup>3</sup> mleka.

W pierwszym rzędzie wypadało udowodnić w sposób ścisły twórczenie się pod działaniem *Bacillus butyricus* leucyny i tyrozyny, których obecność Hueppe, a za nim inni badacze zaznaczają, nie podając jednak, w jaki sposób oznaczenie zostało przeprowadzone. Do tego celu użyłem 400 cm<sup>3</sup> płynu, który rozcieńczyłem wodą do 800 cm<sup>3</sup>. Ponieważ płyn zawierał znaczne ilości kwasu szczawiowego, aby więc nie przeszkadzał przy następnej krystalizacji, strąciłem go za pomocą węglanu wapniowego, a powstały osad szczawianu wapna odsączyłem. Do wykazania obecności leucyny i tyrozyny posługiwałem się metodą, podaną przez Nenckiego<sup>1)</sup>. Strąciłem naprzód białka 5% roztworem chlorku rtęciowego i odsączyłem osad. Rtcę wydzieliłem przez przepuszczenie siarkowodoru; po odsączeniu powstałego osadu, wypędziłem

<sup>1)</sup> Zur Kenntniss der pankreatischen Verdauungsprodukte des Eiweisses. Ber. d. d. chem. Gesell. 28, str. 560—567.

nadmiar  $H_2S$ , przepuszczając strumień powietrza. Przesącz, zobojętniony dokładnie węglanem sodowym, podparowałem do  $\frac{1}{4}$  pierwotnej objętości, przyczem wydzieliła się znaczna ilość osadu, składającego się z kryształów i igiełek. Otrzymane kryształy zbadalem pod mikroskopem. Kształt kryształów i igiełek, układających się w podwójne miotłki, odpowiadał tyrozynie. Obok tych kryształów znajdowały się drobne kulki o współśrodkowem złożeniu, których charakterystyczna postać znamionowała leucynę. Wydzielone kryształy oczyściłem, rozpuszczając je w ciepłym roztworze amoniaku; przesączony płyn podparowałem znowu do krystalizacyi. Zebrane na sączku kryształy po wysuszeniu, przemyłem alkoholem absolutnym dla oddzielenia leucyny, która się w nim rozpuszcza. Pozostały na sączku osad nierozpuszczalny w alkoholu, dawał charakterystyczne reakcje na tyrozynę: czerwone zabarwienie z odczynnikiem Millona, z kwasem octowym 1% w połączeniu z azotynem sodowym; chinon dodany w substancyi do wodnego roztworu osadu wywoływał zabarwienie czerwone, powoli ciemniejące <sup>1)</sup>. Odczyny te wskazały, że otrzymane kryształy składały się rzeczywiście z tyrozyny.

Część osadu krystalicznego, rozpuszczalną w alkoholu, ostrożnie wysuszyłem (dla uniknięcia rozkładu) i otrzymałem w szalce szklanej kule krystaliczne o współśrodkowem, a zarazem promienistym złożeniu. Postać krystaliczna jest tak charakterystyczna dla leucyny, że opierając się na niej, a pomijawszy mniej pewne próby jakościowe <sup>2)</sup>, można jej obecność uważać za pewną.

Do zbadania produktów rozkładu, rozpuszczalnych w eterze, użyłem 400 cm<sup>3</sup> pozostałości od destylacyi. Po oddestylowaniu eteru z ekstraktu pozostała ciekła substancja była zabarwiona żółto-brunatno, a zapach jej był ostry i przykry. Ten płyn rozcieńczony wodą miał barwę zielonawo-żółtą i odczyn silnie kwaśny. W tym rozwodnionym płynie odczynnik Millona dał zabarwienie pomarańczowe i słaby osad. Próba ta przemawia za obecnością kwasów oksyarymatycznych. Próby na kwas skatolooctowy i skatolowęglowy wypadły ujemnie.

Resztę wodnego roztworu tego wyciągu eterowego obróciłem na szukanie kwasu mlecznego za pomocą soli cynkowych. Obecność kwasu mlecznego nie dała się jednak wykazać.

Znajdowanie się peptonu potwierdzają za Hueppem wszyscy bakteriologowie; o ile jednak sądzić można z opisów w literaturze, dotyczącej się lasecznika Hueppe'go, reakcję biuretową otrzymywano bez poprze-

<sup>1)</sup> F. Hoppe-Seyler l. c., str. 189.

<sup>2)</sup> F. Hoppe-Seyler l. c., str. 135.

dniego wydzielenia albumoz. Nasuwa się więc wątpliwość, czy otrzymywany przez Hueppe'go i innych badaczy odczyn biuretowy nie pochodził czasem od albumoz, nie zaś od peptonów. Chcąc więc przekonać się, czy przez działanie *Bacillus butyricus* powstaje z sernika pepton w pojęciu Kühnego, przeprowadziłem dokładnie badanie pozostałości po wyciągnięciu eterem. Oznaczenia peptonu dokonałem w sposób następujący: Po odparowaniu eteru z pozostałości od ekstrakcyi rozcieńczyłem płyn wodą; z tego użyłem do rozbioru 100 cm<sup>3</sup>, odpowiadające około 500 cm<sup>3</sup> mleka. Aby wydalić albumozy, strąciłem je przez trójkratne wysolenie siarkanem amonowym na gorąco przy odczynie po kolei: kwaśnym, alkalicznym i obojętnym. W ten sposób otrzymany przesącz, po usunięciu siarkanu amonowego przez gotowanie z węglanem barowym, dawał zabarwienie i osad barwy żółto-brunatnej z odczynnikiem Millona, nadto chlorek rtęciowy i kwas fosforowo-wolframowy dawały również osad. Odczynu biuretowego nie można było wyraźnie otrzymać z powodu brunatnawego zabarwienia płynu. Chcąc usunąć barwę płynu, strąciłem alkoholem absolutnym pozostałe po wydzieleniu albumoz dalsze produkty rozkładu białka i wygotowałem w nim kilkakrotnie<sup>1)</sup>. Po ostatecznem strąceniu, przemyłem osad alkoholem absolutnym i wysuszyłem w próżni. W ten sposób otrzymałem około 0·8 g. ciała o barwie szarawo-białej, bardzo łatwo rozpuszczającego się w wodzie. Rozczyn wodny był jednak jak poprzedni zabarwiony brunatnawo.

Wobec trudności wykazania peptonu za pomocą odczynu biuretowego w płynie, pozbawionym albumoz, tylko wspomniane poprzednio odczynniki, t. j. chlorek rtęci i kwas fosforowo-wolframowy i odczynnik Millona wskazywały na obecność peptonu; negatywnie stwierdzały toż samo siarkan amonowy i kwas octowy, które nie sprawiały nawet zmętnienia. Na mocy wymienionych odczynów, można stanowczo twierdzić, że *Bacillus butyricus* Hueppe podczas działania na sernik zamienia go częściowo na pepton w pojęciu Kühnego, a częściowo na albumozy.

Na uwagę zasługuje także działanie *Bacillus butyricus* Hueppe na przebieg dojrzewania sera.

Według Löfflera (VIII), lasecznik Hueppe'go wprawdzie rzadko kiedy w mleku się spotyka [co potwierdza w późniejszej pracy Hueppe (XXV)], jednak dokładniejsze poznanie wpływu tej bakteryi na sery było interesujące z innego powodu, a mianowicie, że ona należy do grupy bakteryj, silnie rozkładających sernik. Z obserwacyi, przeprowadzonej nad 4 serami twardymi, z których dwa były zakażone kulturą

<sup>1)</sup> F. Hoppe-Seyler l. c., str. 265.

lasecznika Hueppe'go, a dwa służyły do kontroli, okazało się, że *Bacillus butyricus* wywiera pewien wpływ na sery. Działanie lasecznika objawia się bardzo wyraźnie przez zabarwienie skórki sera, nadto w smaku sera, jego miękkości i zapachu. Zapach sera pod wpływem *Bacillus butyricus* Hueppe staje się bardzo nieprzyjemny, natomiast smak i konsystencja zyskują wskutek jego oddziaływania na sernik

Główne wyniki badań niniejszej pracy nad rozkładem mleka pod działaniem *Bacillus butyricus* Hueppe są następujące:

1. Wbrew zapatrywaniu Hueppe'go i innych bakteriologów *Bacillus butyricus* Hueppe w mleku sterylizowanym wytwarza z materij białkowych mieszaninę kwasów tłuszczowych, a mianowicie głównie octowego i maślnego. Kwasy te występują w rozłożonym mleku w postaci sol amonowych.
2. Wbrew dotychczasowym mniemaniom należy uważać za materiał, z którego się tworzą kwasy tłuszczowe, materje białkowe, nie zaś kwas mleczny (wzgl. mlezany).
3. Produktów gnilnych w mleku rozłożonym przez *Bacillus butyricus* wcale nie znalazłem; kwasów oksyaromatycznych mogą się znajdować tylko ślady. Alkoholi tworzy się w każdym razie tylko mała ilość.
4. Podczas rozkładu mleka pod działaniem *Bacillus butyricus* Hueppe cukier mleczny zostaje częściowo zużyty.
5. Zgodnie ze zdaniem Hueppe'go, *Bacillus butyricus* rozkłada sernik, zamieniając go na albumozy, pepton, leucynę, tyrozynę i amoniak.

Uwzględniając wygląd mikroskopowy, wzrost kolonii, zachowanie się i przemiany sprowadzone w mleku, należałoby *Bacillus butyricus* Hueppe zaliczyć do rzędu *Tyrothrix*, odkrytych i opisanych przez Duclaux, a dokładniej zbadanych przez Winklera. *Bacillus butyricus* Hueppe z żadną z tych form nie jest identyczny; wszelako podobień-

stwo, objawiające się we właściwościach morfologicznych (wzrost kolonii, łączenie się w nitki i pasma), przedewszystkiem zaś we właściwościach fizyologicznych, a mianowicie w rozkładzie sernika, tworzeniu kwasów tłuszczowych w mleku sterylizowanym i t. d. niewątpliwie wskazuje, że istnieje blizkie pokrewieństwo pomiędzy wymienionymi odmianami bakteryi.

---

## LITERATURA.

---

- I. P a s t e u r. Animalcules infusoires vivants sans gaz oxygène libre et déterminant des fermentations.  
Compt. rend. 1861. vol. 52.
- II. P a s t e u r. De l'origine des ferments. Nouvelles experiences relatives aux generations dites spontanées.  
Compt. rend. 1860. vol. 50.
- III. H a u b n e r. Wissenschaftliche und praktische Mittheilungen II. Ueber die fehlerhafte Beschaffenheit der Kuhmilch im Allgemeinen und über die blaue Milch insbesondere.  
Magazin für die gesammte Thierheilkunde 1852, Bd. 18.
- IV. C o h n. Untersuchungen über Bakterien.  
Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1875, Bd. 1.
- V. P r a ż m o w s k i. Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterien-Arten.  
Leipzig 1880.
- VI. H u e p p e. Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen.  
Mittheil. aus dem kais. Gesundheitsamte. 1884, S. 353.
- VII. H u e p p e. Ueber die Zersetzungen der Milch und über die biologischen Grundlagen der Gährungsphysiologie.  
Deutsche med. Wochenschrift. 1884. X. Jahrg. Nr. 49, S. 796.
- VIII. L ö f f l e r. Ueber Bakterien der Milch.  
Berl. klin. Wochenschrift. 1887, Nr. 34, S. 629.
- IX. F l ü g g e. Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung.  
Zeitschr. für Hygiene. 1894, XVII. Bd. 2.
- X. S t e r l i n g. Die peptonisierenden Bakterien der Kuhmilch.  
Centralbl. für Bakt. 1895, I. Bd. 13/14, S. 473.

- XI. Duclaux. Fabrication, maturation et maladies du fromage de Cantal.  
Annales agronomiques. 1878.
- XII. Winkler. Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrix-Arten.  
Centralbl. für Bakt. 1895, I. Bd. 17, 18/19.
- XIII. Duclaux. Le lait, etudes chimiques et microbiologiques.  
Paris 1894, S. 267.
- XIV. Duclaux. Principes de laiterie.  
Paris 1893.
- XV. Baier. Ueber Buttersäuregährung.  
Centralbl. für Bakt. 1895, I. Bd. 1—3.
- XVI. Klecki. Ein neuer Buttersäuregährungserreger. (*Bacillus saccharobutyricus*).  
Centralbl. für Bakt. 1896, II. Bd. 6/7, 8, 9.
- XVII. Botkin. Ueber einen *Bacillus butyricus*.  
Zeitschr. für Hygiene. 1892, XI. Bd.
- XVIII. Kramer. Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft.  
Wien 1892, II. Theil, S. 41.
- XIX. Günther. Einführung in das Studium der Bakteriologie.  
Leipzig 1895, S. 423.
- XX. Scholl. Die Milch, ihre häufigeren Zersetzungen und Verfälschungen.  
Wiesbaden 1891, S. 39.
- XXI. Flügge. Die Mikroorganismen.  
Leipzig 1896, II. Theil, S. 207.
- XXII. Fraenkel. Grundriss der Bakterienkunde.  
Berlin 1891, S. 246.
- XXIII. Eisenberg. Bakteriologische Diagnostik.  
Hamburg u. Leipzig, 1891, S. 102.
- XXIV. Krüger. Bakteriologisch-chemische Untersuchung käsigter Butter.  
Centralbl. für Bakt. 1890, VII. Bd.
- XXV. Hueppe. Ueber die Milchsterilisierung und über bittere Milch mit besonderer Rücksicht auf die Kinderernährung.  
Berl. klin. Wochenschrift 1891, Nr. 29, S. 270.
- XXVI. Flügge. Die Mikroorganismen.  
Leipzig 1886, S. 300.
- XXVII. Jørgensen. Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie.  
Berlin 1892.
- XXVIII. Adametz. Die Bakterien normaler und abnormaler Milch.  
Oesterr. Monatsschrift für Thierheilkunde und Thierzucht. 1890,  
XV. Jahrg., Nr. 2.



## Objaśnienie tablicy V.

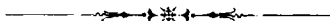
---

A. Preparat z powłoki na jednodniowej kulturze w pożywce płynnej, zawierającej peptonu 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> i sole mineralne.

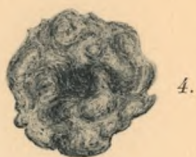
Zeiss. Immers. 1/12. Oc. 2.

Fig. 1—6. Rysunki te przedstawiają rozwój kolonii w kulturze płytowej na żelatynie. Rozwój kolonii trwał około 8 dni przy temp. 18<sup>0</sup>—21<sup>0</sup> C.

Kontury i szczegóły rysunków zdjęte są wprost z pod mikroskopu Reicherta. 4, 4 b.



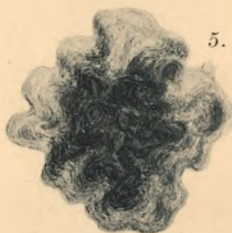
A.



4.



1.



5.

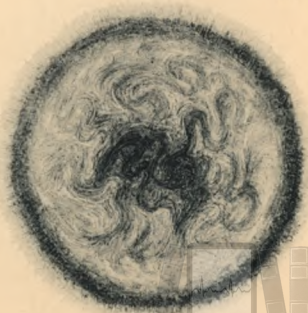
2.



3.



6.





**Biblioteka Główna  
WUM**



- S. Jentys: Studya nad rozkładem i przyswajalnością związków azotowych w odchodach zwierzęcych, lex. 8<sup>o</sup>, str. 113, z 9 rycinami. Cena 1 zlr. 25 ct.
- O wpływie tlenu na rozkład związków azotowych w odchodach zwierzęcych, lex. 8-o, str. 30. Cena 40 ct.
- H. Kadzi: Przyczynki do anatomii porównawczej zwierząt domowych (z tablicą jedną i 2 rycinami) lex. 8<sup>o</sup> str. 22. Cena 50 ct.
- S. Kępiński: O funkcjach Fuchsa dwu zmiennych zespolonych, lex. 8-o, str. 11. Cena 20 ct.
- K. Klecki: Badania doświadczalne nad sprawą wydzielania w jelicie cienkim, lex. 8<sup>o</sup>, str. 55. Cena 60 ct.
- K. Kostanecki: Badania nad zapłodnionymi jajkami jeźwoców, lex. 8-o, str. 44. Z tablicą. Cena 60 ct.
- M. Kowalewski: Studya helmintologiczne, lex. 8-o, Część I, z jedną tablicą, str. 19. Cena 30 ct. — Część II. Przyczynek do histologicznej budowy skóry niektórych przywr, z jedną tablicą i jedną ryciną w tekście, str. 19. Cena 25 ct. — Część III. Bilharzia polonica sp. nov., z jedną tablicą, str. 30. Cena 40 ct. — Część IV. Bilharzia polonica sp. nov. Sprostowania i uzupełnienia. Z jedną tablicą, str. 12. Cena 20 ct.
- J. Kowalski: O prawie zgodności termodynamicznej w zastosowaniu do roztworów potrójnych, lex. 8<sup>o</sup>, str. 5. Cena 10 ct
- W. Kretkowski: O pewnej tożsamości, lex. 8<sup>o</sup> str. 4. Cena 10 ct.
- F. Kreutz: O przyczynie błękitnego zabarwienia soli kuchennej, lex. 8<sup>o</sup> str. 13. Cena 25 ct.
- L. Marchlewski: Synteza cukru trzcinowego, lex. 8-o, str. 6. Cena 10 ct.
- A. Mars: O złośliwym gruczolaku macicy (Adenoma destruens uteri) (z jedną tablicą) lex. 8<sup>o</sup> str. 15. Cena 50 ct.
- A. Mars i J. Nowak: O budowie i rozwoju łożyska ludzkiego, lex. 8-o, str. 49. Z trzema tablicami. Cena 80 ct.
- F. Mertens: Przyczynek do rachunku całkowego, lex. 8<sup>o</sup>, str. 14. Cena 20 ct.
- O zadaniu Malfattego, lex. 8<sup>o</sup>, str. 26. Cena 35 ct.
- W. Natanson: Studya nad teorią roztworów, lex. 8<sup>o</sup> str. 38. Cena 50 ct.
- O znaczeniu kinetycznym funkcji dysypacyjnej, lex. 8<sup>o</sup>, str. 10. Cena 20 ct.
- O prawach zjawisk nieodwracalnych, lex. 8-o, str. 28. Cena 50 ct.
- J. Niedźwiecki: Przyczynek do geologii pobraża karpackiego w Galicyi zachodniej, lex. 8<sup>o</sup>, str. 13. Cena 20 ct.
- S. Niementowski: Syntezy związków chinazolinowych, lex. 8<sup>o</sup>, str. 15. Cena 25 ct.
- O utlenianiu związków chinazolinowych, lex. 8-o, str. 15. Cena 20 ct.
- J. Nowak: Badania doświadczalne nad etiologią skrobiawicy, lex. 8-o, str. 35. Cena 50 ct.
- Dalsze badania nad budową i rozwojem łożyska ludzkiego, lex. 8-o, str. 32. Z dwiema tablicami. Cena 50 ct.
- J. Nusbaum: Przyczynek do kwestyi powstawania śródbłków i ciałek krwi, lex. 8<sup>o</sup>, str. 56, z 3 tablicami. Cena 1 zlr.
- Lyssa i szczątki podjęzka zwierząt mięsożernych, lex. 8-o, str. 21, z jedną tablicą podwójną. Cena 35 ct.
- K. Olearski: Nowy sposób całkowania pewnych równań różniczkowych pierwszego rzędu o dwu zmiennych, lex. 8<sup>o</sup> str. 11. Cena 20 ct.
- K. Olszewski: Próba skroplenia helu (helium), lex. 8-o, str. 8. Cena 10 ct.
- K. Olszewski i A. Witkowski: O własnościach optycznych ciekłego tlenu. Z 2 rycinami, lex. 8<sup>o</sup> str. 4. Cena 10 ct.
- B. Pawlewski: Z teorii roztworów (z dwiema figurami w tekście), lex. 8<sup>o</sup> str. 20. Cena 30 ct.
- G. Piotrowski: O wahanii wstecznem przy pobudzaniu różnych miejsc tego samego nerwu lex. 8<sup>o</sup> str. 31. Cena 25 ct.
- F. E. Poleniusz: O działaniu chlorku benzoilowego na kwasy i bezwodniki kwasowe, lex. 8-o, str. 6. Cena 10 ct.
- J. Prus: O ciałkach Russella, lex. 8-o, str. 18, z tablicą. Cena 40 ct.
- J. Puzyna: O wartościach funkcji analitycznej na okręgach spółśrodkowych z kołem zbieżności jej elementu, lex. 8<sup>o</sup> str. 51. Cena 65 ct.



- M. Raciborski: Chromatofilia jąder worka załączkowego, lex. 8<sup>o</sup> str. 20. Cena 30 ct.  
 — Przyczynok do morfologii jądra komórkowego nasion kielkujących (z jedną tablicą), lex. 8<sup>o</sup> str. 11. Cena 20 ct.  
 — Cycadeoidea Niedzwiedzkiej. Nov. Sp. (z dwiema tablicami), lex. 8<sup>o</sup> str. 10. Cena 25 ct.  
 — Elaioplasty liliowatych, lex. 8<sup>o</sup>, str. 22, z tablicą. Cena 40 ct.  
 — Flora kopalna glinek ogniotrwałych krakowskich; część I. — 4<sup>o</sup>, str. 101. z 22 tablicami. Cena 3 zlr.  
 — Pseudogardneria, nowy rodzaj z rodziny Loganiaceae, lex. 8-o, str. 9, z osmiu rysunkami w tekście. Cena 20 ct.
- K. Radziejwanowski: Przyczynki do znajomości działania chlorku glinowego, lex. 8<sup>o</sup>, str. 11. Cena 20 ct.  
 — O zastosowaniu glinu metalicznego do syntez węglowodorów aromatycznych, lex. 8-o, str. 9. Cena 20 ct.
- M. P. Rudzki: Przyczynok do teoryi fal wodnych niewirowych, lex. 8-o, str. 11. Cena 15 ct.
- J. Schramm: O połączeniach styrolu z kwasem solnym i bromowodorowym, lex. 8<sup>o</sup> str. 6. Cena 10 ct.
- M. Siedlecki: O budowie leukocytów oraz o podziale ich jąder u jaszczurów, lex. 8-o, str. 30. Z tablicą. Cena 50 ct.
- L. Silberstein: Porównanie pola elektromagnetycznego z osrodkiem sprężystym, lex. 8<sup>o</sup>, str. 9. Cena 15 ct.
- J. A. Stodółkiewicz: Kilka uwag o czynniku całującym równań różniczkowych, lex. 8<sup>o</sup>, str. 7. Cena 15 ct.
- W. Syniewski: O metylowęgłanach wielowartościowych fenolów, lex. 8-o, str. 5. Cena 10 ct.
- J. Szyszyłowicz: Diagnoses plantarum novarum; pars I. lex. 8<sup>o</sup>, str. 25. Cena 30 ct.
- L. Teichmann: Naczynia limfatyczne w sloniowacinie (Elephantiasis Arabum) 5 tablic in 4<sup>o</sup> w teście, oraz tekst imp. 8<sup>o</sup> str. 51. Cena 3 zlr.
- L. Wachholz: O oznaczaniu wieku ze zwłok na podstawie kostnienia główki kości ramiennej, lex. 8<sup>o</sup>, str. 44, z tablicą. Cena 65 ct.
- D. Wierzbicki: Spostrzeżenia magnetyczne wykonane w zachodniej części W. X. Krakowskiego w roku 1891, lex. 8<sup>o</sup> str. 20. Cena 30 ct.
- A. Wierzejski: Rotatoria (Wrotki) Galicyi. Z 3 tablicami i 3 rycinami w tekście. lex. 8<sup>o</sup> str. 106. Cena 1 zlr. 25 ct.
- A. W. Witkowski: O własnościach termodynamicznych powietrza, lex. 8-o, str. 46. Z dwiema tablicami i 6 rysunkami. Cena 60 ct.
- Wł. Zajaczkowski: O inwolucyi punktów na liniach tworzących powierzchnię prostokątnej skośnej, lex 8-o, str. 23, z figurą w tekście. Cena 30 ct.
- I. Zakrzewski: O zależności ciepła właściwego ciał stałych od temperatury, lex. 8<sup>o</sup> str. 16. Cena 30 ct.
- R. Załoziecki: O terpenowych węglowodorach w nafcie, lex. 8<sup>o</sup>, str. 13. Cena 20 ct.
- „ Zanietowski: Poszukiwania nad zmianami elektrotonicznymi w pobudliwości nerwów, lex. 8-o, str. 47. Z dwiema tablicami. Cena 70 ct.
- K. Zorawski: O linii wskazującej krzywiznę powierzchni, lex. 8<sup>o</sup>, str. 16. Cena 25 ct.  
 — Iteracye i szeregi odwracające, lex. 8<sup>o</sup>, str. 10. Cena 20 ct.
- Sprawozdania Komisji fizyograficznej obejmujące poglad na czynności dokonane w ciągu roku 1891 oraz materyaly do fizyografii krajowej. Tom XXXI, 8-o, str. XXXIX, 60, 255 i 258, z 2-ma tablicami. Cena 4 zlr.

~~~~~

Skład główny wydawnictw Akademii znajduje się w Księgarni  
 Spółki wydawniczej Polskiej w Krakowie.

