

Отдѣльные оттиски изъ Отчета о дѣятельности
Молочнохозяйственной Бактеріологической Лабораторіи
въ гор. Юрьевѣ за 1913 годъ.

О вліяніи
консервирующихъ веществъ на
реакціи молочной пероксидазы.

Магистра фарм.

Б. К. ГРЕВИНГА.

Изъ Молочнохозяйственной Бактеріологической Лабораторіи
въ Юрьевѣ. (Завѣдующій: проф. К. Гаппихъ).

ЮРЬЕВЪ.

Печатано въ типо-литографіи Г. Лаакманъ.

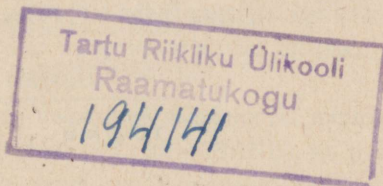
1914.

Отдѣльные оттиски изъ Отчета о дѣятельности
Молочнохозяйственной Бактеріологической Лабораторіи
въ гор. Юрьевѣ за 1913 годъ.

**О вліяніи
консервирующихъ веществъ на
реакціи молочной пероксидазы.**

Магистра фарм.
Б. К. ГРЕВИНГА.

Изъ Молочнохозяйственной Бактеріологической Лабораторіи
въ Юрьевѣ. (Завѣдующій: проф. К. Гаппихъ).



ЮРЬЕВЪ.
Печатано въ типо-литографіи Г. Лаакманъ.
1914.

Вопросъ о томъ, есть ли испытуемое молоко сырое или кипяченое, разрѣшается наиболѣе быстро положительнымъ или отрицательнымъ результатомъ реакцій на молочную пероксидазу. Кромѣ этихъ способовъ быстрога опредѣленія, имѣется еще проба на кипяченіе молочной сыворотки, основанная на свертываніи молочнаго альбумина, которая, однако, требуетъ болѣе большой затраты времени и потому рѣдко примѣняется на практикѣ.

Какъ извѣстно, реакціи на пероксидазу основываются на присутствіи фермента пероксидазы въ сыромъ молокѣ, дѣйствующаго какъ специфическій катализаторъ, т. е. этотъ ферментъ въ значительной мѣрѣ ускоряетъ и повышаетъ окислительную способность мало энергичныхъ самихъ по себѣ перекисей, находящихся здѣсь въ весьма разбавленномъ видѣ.

Кромѣ пероксидазы, предполагаютъ еще присутствіе оксидазы въ молокѣ, но, по мнѣнію А. ВАСН'а и R. CHODAT'а, „прямой оксидазы“ вовсе не существуетъ. Они считаютъ ее просто за болѣе или менѣе раздѣлимую смѣсь своихъ „оксигеназъ“ съ пероксидазами, которыя, однако, возможно получить и отдѣльно. Подъ оксигеназами подразумѣваютъ азотсодержащія вещества, обладающія способностью присоединять молекулярный кислородъ, образуя перекиси, которыя, какъ таковыя, уже окисляютъ субстраты. Пероксидазы — вещества, не обнаруживающія ни малѣйшаго окисляющаго дѣйствія въ отсутствіи H_2O_2 ¹⁾.

Чтобы сдѣлать видимой реакцію пероксидазы, примѣняютъ въ качествѣ субстратовъ фенолы и ароматическіе амины, окисляющіеся въ ясныя красящія вещества.

Такъ напр., при окисленіи гваякола выпадаютъ пурпурово-красныя кристаллики тетрагваякохинона (BERTRAND), но и другіе ароматическіе хромогены даютъ такъ же типичныя окрашиванія. Особое положеніе среди реактивовъ занимаетъ гваяковая настойка, которую часто примѣняютъ для открытія оксигеназъ, какъ и пероксидазъ. Своеобразность этого реактива заключается въ томъ, что онъ можетъ указывать на прямыя оксидазы тамъ, гдѣ

1) C. Oppenheimer. Die Fermente und ihre Wirkungen. 1909.

на самомъ дѣлѣ — только пероксидазы, такъ какъ гваяковая настойка, будучи не совсѣмъ свѣжей, сама содержитъ перекиси.

Объясняется это тѣмъ, что гваяковая настойка самоокислениемъ присоединяетъ кислородъ, образуя перекись и затѣмъ отдаетъ этотъ кислородъ перекиси безъ помощи какого либо другого дѣйствующаго вещества. При опредѣленіи же пероксидазы — безразлично: содержитъ-ли гваяковая настойка перекись сама по себѣ, кромѣ прибавленной.

Продолжительное кипяченіе „убиваетъ“ пероксидазу, короткое же — лишь парализуетъ ее, причемъ черезъ нѣсколько часовъ она восстанавливается (R. CHODAT)¹⁾.

Однако, другіе изслѣдователи, какъ напр., BORDAS и TOUPLAIN²⁾ выражаютъ сомнѣніе въ ферментативной природѣ молочной пероксидазы и приписываютъ окисляющее дѣйствіе казеину. Вслѣдъ за ними HESSE и KOOPER³⁾, сдѣлавъ ошибочный выводъ изъ своихъ опытовъ, что при нагрѣваніи молока щелочность его убываетъ, придерживаются того мнѣнія, что реакція пероксидазы молока зависитъ отъ его щелочности по отношенію къ нѣкоторымъ индикаторамъ.

Изслѣдованіями же другихъ авторовъ вполне доказано, что нагрѣтому молоку свойственна меньшая кислотность, чѣмъ сырому; и уже на этомъ основаніи, нельзя поставить отрицательное отношеніе реакціи пероксидазы въ зависимость отъ уменьшенія щелочности.

Произведя цѣлый рядъ опытовъ съ 5⁰/₀ растворами солей, или, въ случаѣ ихъ нерастворимости, съ 5⁰/₀ солями во взвѣшенномъ состояніи, и дѣйствуя на нихъ слѣдующими реактивами: гваяковой настойкой, гваяковой настойкой + H₂O₂, парафенилендіаминъ-гваяколомъ, парафенилендіаминъ-гваяколомъ + H₂O₂ и гваяколомъ, GRIMMER⁴⁾ исчерпывающимъ образомъ доказалъ, что окислительное дѣйствіе сырого молока не вызывается какими бы то ни было неорганическими катализаторами, ни щелочной реакціей молока. При этихъ опытахъ авторъ нашель, что въ кипяченомъ молокѣ дѣйствительно можетъ получиться реакція пероксидазы съ реактивами STORCH'a и ROTHENFUSSER'a, какъ только къ нему

¹⁾ R. Chodat und A. Bach. Untersuchung V. Zerlegung der sog. Oxydasen etc. Berichte d. Deutsch. chem. Gesellsch. Ig. **36**. S. 606 (1903). Тѣ-же Untersuchungen III. Oxydationsfermente als peroxyderzeugende Körper I. c. Ibid. Ig. **35**. S. 3943. (1902).

²⁾ Bordas et Touplain. Compt. rend. 148. 1909. P. 1057.

³⁾ Hesse und Kooper. Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs-und Genussmittel. **21**. 1911. S. 385.

⁴⁾ Grimmer. Zur Kenntnis d. Milchperoxydase. Milchwirtschaftl. Zentralblatt. Heft 9. 1911, 7 Ig. pag. 395.

прибавляется формалинъ или щелочи; при этомъ, по мнѣнію GRIMMER'a, немаловажную роль играетъ степень нагрѣванія молока. SELIGMANN¹⁾ объясняетъ это обстоятельство тѣмъ, что формалинъ дѣйствуетъ защищающимъ образомъ на ферментъ и даже можетъ его возстановлять. Что это не соотвѣтствуетъ дѣйствительности, и что полученіе этихъ реакцій слѣдуетъ отнести исключительно къ дѣйствію формалина, видно изъ того, что формалинъ одинъ, безъ молока, даетъ тѣ же реакціи. GRIMMER, напротивъ, находитъ, что при продолжительномъ нагрѣваніи молока, въ немъ образуются вещества, ослабляющія дѣйствіе формалина, такъ какъ съ повышеніемъ температуры и при дальнѣйшемъ нагрѣваніи молока, замѣтно понижается интенсивность реакцій.

Далѣе, авторъ для своихъ опытовъ еще пользовался сычужной и свинцовой сыворотками по Rothenfusser'y, причѣмъ не получалъ осадковъ фермента; слѣдовательно, энзима не имѣетъ никакого отношенія къ фракціи глобулина. Энзима осаждается лишь при такихъ же условіяхъ, при которыхъ осаждается альбуминъ, а именно: при подкисленіи сыворотокъ, вполнѣ насыщенныхъ сѣрнокислымъ магниемъ, или полунасыщенныхъ сѣрнокислымъ аммоніемъ, или же почти совсѣмъ насыщенныхъ сѣрнокислымъ аммоніемъ неподкисленныхъ сыворотокъ. Пока въ растворѣ еще имѣется альбуминъ, рядомъ съ нимъ всегда будетъ находиться въ растворенномъ же состояніи пероксидаза. Въ заключеніе GRIMMER предполагаетъ, что пероксидаза есть функція, если и не молочнаго альбумина, то всетаки очень близкаго ему другого, пока еще неизвѣстнаго вещества, во всякомъ случаѣ не неорганической природы.

Чтобы окончательно опровергнуть ферментативную природу пероксидазы, необходимо доказать, что въ молоко дѣйствуютъ только неорганическіе катализаторы, что едва-ли возможно.

Послѣ этого краткаго обзора главныхъ свойствъ молочной пероксидазы, я перехожу къ наиболѣе употребительнымъ и важнымъ способамъ опредѣленій ея. Сюда относятся: гваяковая проба, парафенилендіаминовая проба STORCH'a, бензидиновая проба WILKINSON'a и PETERS'a, креозотовая проба WEBER'a, гваяколовая проба DUPOUY-UTZ'a и сывороточныя пробы ROTHENFUSSER'a: 1) съ парафенилендіаминъ-гваяколомъ, 2) съ бензидиномъ + крѣпкой уксусной кислотой.

Всѣ перечисленныя реакціи производятся въ присутствіи H_2O_2 .

¹⁾ Seligmann. Zeitschrift. f. Hygiene u. Infectiouskrankheiten 50. 1905. S. 97.

Предполагая всѣ эти реакціи общеизвѣстными, я не буду подробно останавливаться ни на составѣ реактивовъ, ни на ихъ эффектѣ дѣйствія на молоко.

Здѣсь возникаетъ вопросъ, являются ли эти реакціи при всякихъ условіяхъ безупречными? Не вызываютъ ли какія либо другія вещества, не входящія въ нормальный составъ молока, но прибавляющіяся къ нему въ качествѣ, такъ называемыхъ, консервирующихъ веществъ, тѣ же положительныя реакціи и которыя якобы указываютъ на пероксидазы тамъ, гдѣ онѣ не имѣются въ активномъ состояніи, т. е. гдѣ онѣ „убиты“? Послѣднее относится особенно къ кипяченому молоку. —

Мы уже знаемъ изъ вышесказаннаго, что нѣкоторыя изъ употребительныхъ консервирующихъ веществъ, какъ напр., формалинъ, уже самъ по себѣ даетъ васильково-синее окрашиваніе съ бензидиномъ и вызываетъ посиненіе гваяковой настойки. Слѣдовательно, прибавляя формалинъ къ кипяченому молоку, мы во всякомъ случаѣ получимъ съ вышеприведенными реактивами синее окрашиваніе.

Хотя нѣкоторые авторы, какъ было уже сказано, объясняютъ это явленіе возстановленіемъ или регенераціей пероксидазы, но фактъ, что формалинъ самъ по себѣ даетъ тѣ же реакціи, доказываетъ противное. Намъ извѣстны еще нѣкоторыя другія консервирующія вещества, которыя такъ же реагируютъ съ парафенилендіаминомъ и нѣкоторыми другими веществами.

По этимъ причинамъ, я себѣ поставилъ задачей выяснить, въ какой степени и которыя изъ обыкновенно примѣняемыхъ консервирующихъ веществъ даютъ безспорно точный результатъ, при примѣненіи вышеуказанныхъ наиболѣе употребительныхъ реактивовъ на молочную пероксидазу.

Хотя консервирующія вещества въ томъ количествѣ, въ которомъ они прибавляются къ молоку, сами по себѣ и не могутъ причинять замѣтнаго вреда потребителю, но они не могутъ быть допустимы, потому что маскируютъ дѣйствительное состояніе молока. Въ однихъ случаяхъ ихъ прибавляютъ, чтобы избѣжать скисаніе молока, въ другихъ случаяхъ, чтобы нейтрализовать уже скисшее молоко, а въ третьихъ, съ цѣлью воспрепятствовать разложенію молока, ихъ прибавляютъ къ пробамъ, посылаемымъ для точныхъ изслѣдованій въ спеціальныя лабораторіи.

Уже Т. JONA¹⁾ производилъ опыты для оцѣнки парафенилендіаминовой и гваяколовой реакцій въ присутствіи консерви-

¹⁾ Т. Jona. Chem. Zentralblatt. 1913. Bd. I. N — 20, pag. 1790. „Üeber einige Peroxydasereaktionen der Milch“.

рующихъ веществъ, какъ въ сыромъ, такъ и въ кипяченомъ молокѣ. Авторъ изслѣдовалъ молоко съ прибавленіемъ слѣдующихъ консервирующихъ веществъ:

- 1) Борная кислота 1⁰/₀. 2) Бура 1⁰/₀. 3) Салициловая кислота 0,2⁰/₀. 4) Бензойная кислота 0,2⁰/₀. 5) Двууглекислый натръ 1⁰/₀. 6) Сулема 0,1 : 1000. 7) Алкогольный растворъ фенола (? ⁰/₀). 8) Аммиачный растворъ CUSO_4 — 0,45⁰/₀.

Авторъ производилъ гваяколовую реакцію, прибавляя къ 5 кбцм. консервированнаго молока 1 кбцм. 1⁰/₀ раствора гваякола и 1—2 капли 0,5⁰/₀ H_2O_2 ; парафенилендіаминую реакцію, прибавляя къ 5 кбцм. консервированнаго молока 2 капли 2⁰/₀ (приблизительно) воднаго раствора парафенилендіамина и 1—2 капли 0,5⁰/₀ H_2O_2 .

Полученныя имъ окрашиванія молока приведены въ таблицѣ, раздѣленной на 2 столбца: въ I столбцѣ — окрашиванія въ началѣ опыта, во второмъ — послѣ 24-хъ часового стоянія при 15⁰ Ц. Авторъ приходитъ къ заключенію, что на реакціи пероксидазы для отличія сырого молока отъ кипяченаго, посредствомъ растворовъ парафенилендіамина и гваякола, не вліяетъ ни одно изъ употребленныхъ консервирующихъ веществъ, за исключеніемъ 0,45⁰/₀ аммиачнаго раствора CUSO_4 , который вызываетъ одинаковыя окрашиванія какъ въ сыромъ, такъ и въ кипяченомъ молокѣ и оказавшагося поэтому непригоднымъ какъ консервирующее вещество.

Далѣе, авторъ опредѣлилъ, въ какой степени вліяютъ на реакцію пероксидазы повышение температуры и продолжительность нагрѣванія и пришелъ къ выводу, что прибавленныя консервирующія вещества при нагрѣваніи останавливаютъ реакцію пероксидазы ранѣе обыкновеннаго.

Самое сильное дѣйствіе оказывали салициловая кислота и сулема.

Свои опыты я распространилъ на большее число реактивовъ и консервирующихъ веществъ, во-первыхъ, для того, чтобы рѣшить, какіе реактивы вообще являются надежными въ данномъ случаѣ, т. е. достаточны ли они сами по себѣ, или въ связи съ другими дополнительными реакціями; во-вторыхъ, чтобы узнать вліяніе на реакціи пероксидазы такихъ употребительнѣйшихъ консервирующихъ веществъ, какъ двухромокислый калий, формалинь, перекись водорода и феноль.

Примѣненіе фенола, какъ консервирующаго вещества, мы находимъ у DENIGÈS¹⁾, который пользовался имъ для молоч-

¹⁾ Denigès. Ztschrift. f. Untersuchung d. Nahrungs- und Genussmittel etc. 1913. 26 Bd. pag. 204.

ныхъ пробъ, подлежащихъ изслѣдованію, беря 1% раствора, состоящаго изъ 50,0 фенола въ 100 кбцм. 95° алкоголя. По заявленію DENIGÈS проба, сохранявшаяся въ теченіе 10 лѣтъ, давала такія же данныя, какъ свѣжая.

Далѣе, KÜHN¹⁾, производя опыты съ парафенилендіаминовымъ реактивомъ STORCH'a, нашель, что реакція не примѣнима въ присутствіи формалина. Скисшее молоко при этомъ сначала нейтрализовалось известковой водой.

„При оцѣнкѣ этой реакціи слѣдуетъ принять во вниманіе недостатокъ парафенилендіаминовой реакціи, заключающійся въ томъ, что долго стоявшее кипяченое молоко показываетъ положительную реакцію, по всей вѣроятности, благодаря размноженію бактерій. Въ такомъ случаѣ кипяченое молоко нужно еще изслѣдовать при помощи гваяковой настойки, такъ какъ оно даже послѣ продолжительнаго храненія, не показываетъ синяго окрашиванія отъ гваяковой настойки. Но гваяковой реакціи не получается, если пользоваться большимъ количествомъ перекиси водорода, въ особенности же послѣ болѣе продолжительнаго дѣйствія ея на молоко. Какъ извѣстно, малыя количества H_2O_2 ускоряютъ гваяковую реакцію, большія же, напротивъ, ее приостанавливаютъ (1,5—3 кбцм. 3% H_2O_2 на 100 кбцм. молока).

Консервирующія вещества: $NaHCO_3$, бура, борная кислота и салициловая кислота не оказываютъ никакого вліянія на гваяковую реакцію. Формалинъ можетъ ослабить гваяковую реакцію сырого молока, только будучи прибавленъ въ значительномъ количествѣ (20 кбцм. формалина на 1 литръ молока), особенно при продолжительномъ его дѣйствіи на молоко.“

Въ дополненіе къ приложеннымъ выше изслѣдованіямъ KÜHN'a слѣдуетъ замѣтить, что гваяковая реакція по его изслѣдованіямъ не примѣнима въ присутствіи двухромокислаго калия, такъ какъ она и для кипяченаго молока даетъ положительный результатъ. —

Въ своихъ опытахъ я прибавлялъ къ сырому и къ кипяченному молоку консервирующія вещества, приведенныя въ помѣщенныхъ ниже таблицахъ.

Далѣе, для производства гваяковой пробы, я прибавлялъ къ 5 кбцм. консервированнаго молока 25 капель гваяковой настойки + 3 капли 0,3% H_2O_2 , наблюдая ходъ реакціи при насаиваніи и перемѣшиваніи. Для производства парафенилендіа-

¹⁾ Kühn. Nachweis gekochter Milch. Prüfung auf Erhitzung. Ztschrift. f. Fleisch und Milchhygiene. Hft. 4. pag. 115. 1912.

миновой реакціи STORCH 'а, я къ 5 кбцм. консервированнаго молока прибавлялъ 3 капли 2⁰/₀ воднаго раствора парафенилендіамина + 3 капли 0,3⁰/₀ Н₂О₂. Реакцію WILKINSON-PETERS'а я производилъ такимъ образомъ: къ 10 кбцм. консервированнаго молока я прибавлялъ 2 кбцм. 4⁰/₀ спиртнаго раствора бензидина + 3 капли крѣпкой уксусной кислоты и взбалтывалъ, затѣмъ, осторожно по стѣннкѣ пробирки приливалъ 2 кбцм. 3⁰/₀ Н₂О₂, не взбалтывая.

Реакцію WEBER'а я производилъ, взявъ на 5 кбцм. консервированнаго молока 10 капель буковаго креозота + 2 капли 3⁰/₀ Н₂О₂, сильно взбалтывалъ и наблюдалъ перемѣну окрашиванія въ продолженіи 20 минутъ.

Производя реакцію DUPOUY-UTZ'а, я смѣшивалъ по 3 кбцм. консервированнаго молока и 1⁰/₀ воднаго раствора гваякола, прибавлялъ 3 капли 3⁰/₀ Н₂О₂ и взбалтывалъ. Для производства сывороточныхъ реакцій ROTHENFUSSER'а приготавливалась свинцовая сывортка; къ 10 кбцм. этой сывортки были прибавлены 2 капли 0,3⁰/₀ Н₂О₂ + 10 капель парафенилендіаминъ-гваякового раствора ROTHENFUSSER'а, и эта смѣсь взбалтывалась. Производя бензидиновую реакцію, смѣшивалось 10 кбцм. свинцовой сывортки съ 2 каплями 0,3⁰/₀ Н₂О₂ и 10 каплями 2⁰/₀ алкогольнаго раствора бензидина, затѣмъ еще 2 капли крѣпкой уксусной кислоты, и эта смѣсь взбалтывалась.

При опытахъ я ограничился наблюденіемъ самаго начала наступленія появленій реакцій и теченія ихъ въ продолженіи 20 минутъ, и, въ противоположность JONA, не наблюдалъ пробы послѣ 24 часового стоянія, такъ какъ, по моимъ наблюденіямъ, при производствѣ реакцій въ данномъ случаѣ получается искомый результатъ уже послѣ 20 минутъ, считая отъ начала наступленія реакцій.

Точно также на мой взглядъ, при внимательномъ наблюденіи интенсивности и оттѣнковъ цвѣтныхъ явленій въ реакціяхъ, выясняется первоначальное кратковременное нагрѣваніе молока до 68—70° Ц. Что касается, наконецъ, порядка отдѣльныхъ реактивовъ при производствѣ этихъ опытовъ, то я въ послѣдствіи, для бѣльшей чувствительности реакцій, всегда прибавлялъ сначала перекись водорода, а затѣмъ субстратъ.

Итоги моихъ опытовъ надъ сырымъ и кипяченымъ консервированнымъ молокомъ съ названными реактивами изложены въ обѣихъ нижеприведенныхъ таблицахъ.

Т а б л и

СЫРОЕ консервиру

Консервирующія в - в а :	Гваяковая проба.	Реакція Шторха.	Реакція Вебера.
Борная кислота 1 ⁰ / ₀	голубое	индиго-синее	коричневато-розовое
Бура 1 ⁰ / ₀	зеленовато-синее	сине-фиолетовое	коричневато-розовое
Салициловая к-та 0,2 ⁰ / ₀	голубое	индиго-синее	слабо- коричневато-розовое
Бензойная к-та 0,2 ⁰ / ₀	голубое	индиго-синее	слабо- коричневато-розовое
Двууглекисл. натръ 1 ⁰ / ₀	синее	сине-фиолетовое	коричневато-розовое
Сулема 0,1 ⁰ / ₀₀	голубое	индиго-синее	слабо-розовое
Формалинь 1 ⁰ / ₀₀	зеленовато-синее, черезъ 1 мин.	красно-фиолетовсе, черезъ нѣсколько сек.	слабо-розовое, появляется медленно
Двухромокисл. калий 1 ⁰ / ₀₀	зеленовато-синее	индиго-синее	свѣтло-шоколадно- бурое
Перекись водорода 2 ⁰ / ₀	безцвѣтно	индиго-синее	слабо-розовое, черезъ 1—2 мин.
Алкогольн. раств. фе- нола по Denigès 2 ⁰ / ₀	синее	красно-фиолетовое	коричневато-розовое

ца I.

ванное МОЛОКО.

Реакція Дюпуй-Утца.	Реакція Вилкинсона, и Петерса.	Сывороточныя реакції Ротенфуссера:	
		I парафенилендіаміновая проба.	II бензидиновая проба.
красновато-оранжевое	синее	красно-фіолетовое	васильково-синее
красновато-оранжевое	синее	красно-фіолетовое	васильково-синее
слабо- красновато-оранжевое	темно-синее	темно-красно-фіолетовое	темно-синее
слабо- красновато-оранжевое	темно-синее	темно-красно-фіолетовое	темно-синее
красновато-оранжевое	сине-зеленое	свѣтло-красно-фіолетовое	васильково-синее
красновато-оранжевое	синее	темно-красно-фіолетовое	темно-синее
слабо-оранжевое, появляется медленно	синее	темно-красно-фіолетовое	темно-синее
красновато-бурое, переходящее въ шоколадно-бурое	синее	красно-фіолетовое	васильково-синее
красновато-оранжевое, черезь 1/2 мин.	сейчасъ, послѣ прибав- ленія уксуcн. к-ты, сѣро- синее , послѣ прибавл. H ₂ O ₂ - синее	вишнево- красно-фіолетовое	темно-синее
красновато-оранжевое	синее	красно-фіолетовое	синее, переходящее въ сине-фіолетовое

Т а б л и

КИПЯЧЕНОЕ консерви

Консервирующія в - ва :	Гваяковая проба.	Реакція Шторха.	Реакція Вебера.
Борная кислота 1 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Бура 1 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Салициловая к-та 0,2 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Бензойная к-та 0,2 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Двууглекисл. натръ 1 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Сулема 0,1 ⁰ / ₀₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Формалинь 1 ⁰ / ₀₀	безцвѣтно	сѣро-голубовато- фіолетовое	безцвѣтно
Двухромокисл. калий 1 ⁰ / ₀₀	зеленовато-синее, черезъ 1 мин.	индиго-синее	свѣтло-шоколадно- бурое
Перекись водорода 2 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
Алкогольн. раств. фе- нола по Denigès 2 ⁰ / ₀	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно

ца II.

рованное МОЛОКО.

Реакція Дюпуй-Утца.	Реакція Вилкинсона и Петерса.	Сывороточныя реакціи Ротенфуссера:	
		I парафенилендіаміновая проба.	II бензидиновая проба.
безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
безцвѣтно	безцвѣтно	розово-свѣтло-фіо- летовое, при стояніи темнѣть	безцвѣтно
безцвѣтно	безцвѣтно	розово-фіолетовое, при стояніи темнѣть	безцвѣтно
безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
безцвѣтно	безцвѣтно	розово-фіолетовое, черезъ 1—2 мин. тем- нѣе	быстро исчезающее синее
безцвѣтно	синее	красно-фіолетовое	синее
сѣро-буровато, потомъ шоколадно-бурое	синее	едва замѣтно розово-фіолетовое	безцвѣтно!!
безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно
безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно	безцвѣтно

Разсматривая подробнѣе таблицу I, обнаруживаемъ полный отказъ гваяковой реакціи при сыромъ молокѣ, консервированномъ перекисью водорода. Молочныя пробы съ бурой, формалиномъ и двуххромокислымъ калиемъ окрашиваются въ одинаковый зеленовато-синій цвѣтъ; окрашивание остальныхъ, упоминаемыхъ въ таблицѣ, пробъ молока имѣетъ различные оттѣнки синяго цвѣта. Реакція STORCH'a всюду даетъ положительный результатъ, кромѣ различія въ оттѣнкахъ сине и красно-фіолетоваго цвѣта. Дѣйствіе реактива WEBER'a ослабляется въ молочныхъ пробахъ, содержащихъ салициловую и бензойную кислоты, равно какъ и сулему, формалинъ и перекись водорода. Совершенно иное отъ остальныхъ пробъ окрашивание показываетъ молочная проба, содержащая двуххромокислый калий.

Реактивъ DUPOUY-UTZ'a относится ко всѣмъ пробамъ аналогично реактиву WEBER'a, за исключеніемъ молочной пробы съ сулемой, отличающейся болѣе темнымъ оттѣнкомъ, чѣмъ таковая отъ реакціи WEBER'a и молочной пробы съ H_2O_2 , гдѣ ясное окрашивание наступало на $1/2$ минуты позже. Реакція WILKINSON-PETERS'a и сывороточныя реакціи ROTHENFUSSER'a никакого отклоненія не показываютъ отъ обыкновеннаго окрашивания, кромѣ различныхъ оттѣнковъ. Интенсивность окрашиваній этихъ реакцій особенно выступала при молочныхъ пробахъ съ салициловой и бензойной кислотами, какъ и съ сулемой, формалиномъ и перекисью водорода.

Въ таблицѣ II, обнимающей цвѣтотворныя реакціи кипяченаго консервированнаго молока, имѣются данныя, сильно расходящіяся съ таковыми чистаго кипяченаго молока. Особенно это замѣчается для молока, содержащаго двуххромокислый калий. Всѣ реактивы даютъ съ названной молочной пробой окрашивания, кромѣ сывороточныхъ реакцій ROTHENFUSSER'a, дающихъ и въ этомъ случаѣ отрицательный результатъ, причиной чему является способъ ROTHENFUSSER'a получения молочной сывотки растворомъ основнаго уксуснокислаго свинца. Послѣдній образуетъ съ двуххромокислымъ калиемъ нерастворимый хромокислый свинецъ, выпадающій съ остальными веществами въ осадокъ, и такимъ образомъ сывотка дѣлается свободной отъ хрома.

Поэтому для вышеупомянутаго изслѣдованія молока, консервированнаго двуххромокислымъ калиемъ, особенно цѣнны сывоточныя реакціи ROTHENFUSSER'a въ качествѣ сравнительныхъ реакцій съ другими.

Окрашиванія кипяченаго молока, консервированнаго формалиномъ, вызванныя реактивами STORCH'a, WILKINSON-PETERS'a и сывороточными ROTHENFUSSER'a, объясняются свойствомъ формалина, способнаго самого по себѣ взаимодействовать съ вышеприведенными реактивами, отчего и получаются эти окрашиванія. Кипяченое молоко, содержащее салициловую и бензойную кислоты и сулему, не даетъ окрашиваній съ какими либо реактивами, исключая парафенилендиаминовой сывороточной реакціи ROTHENFUSSER'a, чѣмъ еще разъ подтверждается особенная цѣнность этой реакціи. Молочная проба съ сулемой вызываетъ сверхъ того съ бензидиновымъ реактивомъ ROTHENFUSSER'a быстро исчезающее посиненіе, требующее тщательнаго наблюденія хода реакціи, точно также подчеркивающее значеніе сывороточныхъ реакцій.

Помѣщенныя выше таблицы, при цѣлесообразномъ ихъ примѣненіи, облегчаютъ въ значительной мѣрѣ, согласно вышеизложенному, возможность отличить сырое отъ кипяченаго консервированное молоко, послѣ предварительнаго открытія консервирующаго вещества.

Подводя итоги опытовъ, приходимъ къ слѣдующимъ выводамъ:

1) Для отличія сырого отъ кипяченаго молока, при подозрѣніи въ немъ консервирующихъ веществъ, не достаточно одного реактива, но необходимо еще примѣнять дополнительные реактивы.

2) Особого вниманія при этихъ изслѣдованіяхъ заслуживаютъ: *иваяковая* реакція (послѣ предварительнаго испытанія настойки) и реактивъ DUPOUY-UTZ'a въ связи съ сывороточными реакціями ROTHENFUSSER'a.

3) При названныхъ изслѣдованіяхъ нужно обращать должное вниманіе на оттѣнки окрашиваній, ихъ послѣдовательность и интенсивность.

4) При реакціяхъ молочной пероксидазы временемъ наблюденій ихъ слѣдуетъ считать начало появленія цвѣтовыхъ эффектовъ и затѣмъ первыя 15—20 минутъ.

5) Въ тѣхъ случаяхъ, гдѣ требуется отличить сырое отъ кипяченаго молока, не пригодны въ качествѣ консервирующихъ веществъ слѣдующія: двухромокислый калий, формалинъ и сулема, и, затѣмъ, салициловая и бензойная кислоты.

6) Для консервированія молочныхъ пробъ, посылаемыхъ для изслѣдованія въ молочныя лабораторіи, рекомендуется алко-

гольный растворъ фенола по DENIGÈS'a. (1 кбцм. на 100 кбцм. молока).

Въ заключение слѣдуетъ еще указать на два важные фактора, при производствѣ подобныхъ опытовъ:

1) Для обнаруживанія молочной пероксидазы слѣдуетъ прибавить къ молоку сначала перекись водорода, а затѣмъ субстратъ.

2) Для каждого изслѣдованія требуются контрольныя реакціи. Эти контроли производятся, съ цѣлью сравненія изслѣдованной молочной пробы, съ сырымъ и кипяченымъ молокомъ, съ прибавленіемъ консервирующаго вещества, подозрѣваемаго въ изслѣдуемой молочной пробѣ.

Est.

A-12110

19366

TÜ RAAMATUKOGU



1 0300 01064728 9