

Э-84

5275

ПРИЛОЖ. КЪ ПОВР. ИЗД. „ТРУДЫ ФИЗИКО-МЕДИЦИНСКАГО ОБЩЕСТВА“ № 2 1895 г.

Э

КЕФИРЪ.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ И ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ.

Исторический институт
№ 5275
Истор.

1936
ДИССЕРТАЦІЯ

НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

НИКОЛАЯ ЭСАУЛОВА,

ординатора тюремныхъ больницъ и санитарнаго врача тюремныхъ учреждений въ Москвѣ.

184081

МОСКВА

Типографія Э. Лисснера и Ю. Романа.

Боденшюма, Крестовоздвиженскій пер., д. Лисснера.

1895.



15,282
2-84

ПОЖОВЪ

ПРИЛОЖ. КЪ ПОВР. ИЗД. „ГРУДЪ ФИЗИКО-МЕДИЦИНСКАТО ОБЩЕСТВО“ № 2. 1895 г.

2002.1009 - 1

КЕФИРЪ.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ И ХИМИЧЕСКОЕ ИЗСЛѢДОВАНИЕ.

5275
2-84
3668
1441

ДИССЕРТАЦІЯ

НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

НИКОЛАЯ ЭСАУЛОВА,

ординатора тюремныхъ больницъ и санитарнаго врача тюремныхъ учреждений въ Москвѣ.

3668

Имп. НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
1-го Харьк. Мед. Института

Перечисл.
1966 г.

МОСКВА.

ТИПОГРАФІЯ Э. ЛИСИНСКА И Ю. РОМАНА
Болдвинская, Красногвардейской пер., 2. Лисинскя.
1895.



1950

Правучет-60

7-10/9 2012

По определению Медицинского факультета Императорского Московского университета, состоявшемуся 20-го января 1895 года, печатать дозволяется.

Деканъ П. Клейнъ.

Кефирное брожение представляет очень много интереса, какъ съ точки зрѣнія чисто научной, теоретической, такъ и, въ особенности, со стороны практической. Кефиръ служитъ обычнымъ напиткомъ народа съ невысокой степенью культуры, а потому и приготовленіе его до сихъ поръ отличается примитивностью; цѣлебныя же свойства этого напитка давно были извѣстны медицинѣ, и лѣчение имъ представляетъ изъ себя орудіе, которымъ очень часто врачъ пользуется въ своей борьбѣ съ болѣзнію. Между тѣмъ способъ приготовленія кефира и въ наше время вполнѣ зависитъ отъ воли и внимательности приготовляющаго. Что касается бродила этого напитка, его состава и происхожденія, то мы имѣемъ такъ мало точныхъ знаній о немъ, что оно и до сего времени не лишено того ореола таинственности и чудесности, которыми окружила его родина. Между тѣмъ точное научное знаніе состава этого бродила является теперь насущною потребностью. По характеру тѣхъ процессовъ, которые развиваются въ молокѣ при изготовленіи кефира, давно уже предполагалось, что бродило, кефирный грибокъ, есть организованный ферментъ, но изученіе его шло параллельно и въ зависимости съ успѣхами бактериологіи и, въ особенности, съ развитіемъ техники мето-

1*

ИЗДАТЕЛЬСТВО
ИЗДАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА
ИЗДАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА

довъ ея. Но и до сего времени мы не знаемъ того, что такое кефирный грибокъ и почему и какъ онъ оказываетъ химическое дѣйствіе на молоко. Между тѣмъ практика употребленія кефира, какъ лечебнаго средства, нерѣдко показываетъ, что у нѣкоторыхъ изъ больныхъ этотъ напитокъ вмѣсто пользы приноситъ вредъ и безъ того распатанному болѣзнями здоровью. Большую часть мы объясняемъ себѣ это явленіе такъ, что такіе субъекты не переносятъ кефира. Но всегда ли это такъ, всегда ли причина лежитъ въ индивидуальности организма больного? Не заключается ли причина этого въ измѣненіи состава бродила, а слѣдовательно, и въ измѣненіи характера самого кефирнаго броженія?

Разъясненіе сущности нормальнаго кефирнаго броженія и легло въ основаніе представляемаго нами труда.

Для того, чтобы изучить условія какого-либо броженія вообще, нужно, прежде всего, познакомиться съ бродиломъ, его составомъ и морфологіей, прослѣдить, какіе химическіе процессы возникаютъ при броженіи и какъ измѣняется тотъ субстратъ, въ которомъ вегетируетъ бродило.

Только послѣ изученія нормальнаго хода броженія можетъ выясниться, какіе химическіе процессы возникаютъ при неправильномъ ходѣ броженія и въ чемъ состоятъ эти неправильности. Естественнымъ слѣдствиемъ такихъ знаній явится рекомендація практическихъ методовъ, съ помощью которыхъ мы могли бы получать постоянно одинаковое, и по качеству, и по интенсивности, броженіе.

Таковъ въ общихъ чертахъ былъ планъ, котораго

мы держались въ изслѣдованіяхъ вопроса о кефирномъ броженіи.

Хотя представляемый нами трудъ и не даетъ полного отвѣта на изучаемый нами вопросъ, но мы рѣшились выступить съ нимъ по слѣдующимъ соображеніямъ.

Во-первыхъ, результаты, къ которымъ мы пришли въ своихъ изслѣдованіяхъ, кромѣ научнаго интереса представляютъ и нѣкоторое практическое значеніе.

Во-вторыхъ, они могутъ возбудить интересъ къ этому вопросу и другихъ изслѣдователей, и, такимъ образомъ, при совмѣстномъ трудѣ удастся скорѣе и правильнѣе рѣшить самый вопросъ.

Рѣшеніе же его, помимо того, что внесетъ много новаго, цѣннаго въ ученіе о броженіи вообще, дастъ возможность готовить кефиръ рациональнымъ, научнымъ методомъ и тѣмъ самымъ избѣгать измѣненій его химическаго состава, которымъ обязанъ такъ часто своими вредными качествами кефиръ, приготовляемый теперь столь примитивно и рутинно.

Какъ самой темой, такъ и руководствомъ въ работѣ я всецѣло обязанъ завѣдывающему лабораторіей, въ которой я производилъ свои изслѣдованія, директору А. И. Войтову, которому я и приношу свою глубокую благодарность за то чисто товарищеское отношеніе, которое онъ неизмѣнно проявлялъ во все продолженіе моей работы. Химическія изслѣдованія производились мною въ химической лабораторіи Фармакологическаго института профессора В. С. Богословскаго, который постоянно съ горячимъ участіемъ относился къ моей работѣ, за что я приношу ему,

а также и ассистенту его, В. П. Ижевскому, руководившему мною при производствѣ химическихъ изслѣдованій, свою сердечную благодарность. Считаю также приятнымъ долгомъ выразить свою искреннюю признательность профессору В. А. Тихомирову за тѣ советы, которыми я не разъ пользовался въ своей работѣ.

Рисунки сдѣланы мною самимъ акварелью съ микроскопическихъ препаратовъ.

Литературный очеркъ.

Въ концѣ 60-хъ годовъ впервые появилось въ литературѣ извѣстіе о существованіи у кавказскихъ горцевъ фермента, вызывающаго броженіе въ коровьемъ молокѣ. Бродило это называлось кефирнымъ зерномъ или грибоккомъ; напитокъ же, образующійся при этомъ броженіи, — кефиромъ.

Цѣлебныя свойства кефира, подавленныя и врачебными наблюденіями, быстро завоевали ему видное мѣсто въ терапіи. Однако живѣе горцевъ окружило ореоломъ таинственности и чудесности какъ самый напитокъ, такъ и производящее его бродило. Въ короткое время возникла по этому вопросу цѣлая литература, хотя въ послѣднее время интересъ къ нему уже значительно уменьшился.

Всѣ почти изслѣдователи согласны между собою въ описаніи физическихъ свойствъ кефирнаго грибка, поэтому мы, во избѣжаніе излишнихъ повтореній, приведемъ здѣсь описаніе одного изъ наиболѣе занимавшихся по этому вопросу изслѣдователей — Подысоцкаго. Кефирный грибокъ представляетъ изъ себя „, пишеть онъ, „различной величины комочки, отъ булавочной головки до 4—5 см. въ діаметрѣ. Цѣтъ сухихъ, частыхъ зеренъ желтый, и меньшія изъ нихъ по наружному виду походятъ на зернышки пшена, отчего они, по всей вѣроятности, и получили названіе зеренъ. Размоченныя въ водѣ, они бѣлѣютъ, дѣлаются упругими, такъ что ихъ трудно бываетъ разорвать, и разбухаютъ, при чемъ увеличиваются вдвое. Большія зерна какъ будто состоятъ изъ отдѣльныхъ меньшихъ, нагроможденныхъ другъ на друга, зернышекъ“.

Но, будучи согласны въ описаніи наружнаго вида грибка, большинство изслѣдователей рисуетъ прямо противорѣчивыя другъ другу картины ихъ микроскопическаго строенія.

Первая попытка описать микроскопическую картину грибка принадлежитъ Сиповичу и относится къ 1867 году. Ради историческаго интереса мы приведемъ это описаніе въ подлинникѣ.

При исследовании этого вещества под микроскопом замечаются разбросанные кое-где в полъ зрѣнія шарикъ жира и скученныя въ болѣе или менѣе значительныя и плотныя группы какъ-то палочкообразныя тѣла, цилиндрическія, конферовидныя, болѣею частью прямыя, но иногда слегка изогнутыя въ дугу и переплетенныя между собою; они, часто своими концами соприкасаются между собою, представляютъ какъ бы сочлененныя нѣтъ пивневидныхъ альгъ. Не составляютъ ли они родъ *Стрессосус северисіае*?²⁴

Изъ этого описанія можно вывести только то заключеніе, что Сиповичъ уже предполагалъ существованіе органической природы кефирнаго гриба.

Прошло 10 лѣтъ послѣ сообщенія Сиповича пока не появились новыя исследования по тому же вопросу Шабловскаго. Въ своей работѣ авторъ впервые знакомитъ насъ какъ съ тончайшимъ строеніемъ бродила, такъ и съ морфологіей входящихъ въ его составъ элементовъ. Методы исследования, употреблявшіеся имъ, состояли въ раствореніи гриба въ кислотахъ и щелочахъ и въ микроскопическомъ наблюденіи, какъ получавшихся при этомъ осадковъ, такъ и препаратовъ изъ срѣзовъ сухихъ грибовъ и изъ расщипаннаго размоченнаго гриба.

Микроскопическую картину срѣза черезъ сухой грибокъ Шабловскій описываетъ такъ: „края препарата состоятъ изъ перерѣзанныхъ въ различныхъ направленіяхъ плѣсневыхъ нитей, отъ которыхъ не на очень болѣе протяженіе вглубь идутъ отдѣльныя такія же нити. Остальная часть препарата состоятъ изъ мелкозернистой, нѣтъстами тонковолокнистой основы, въ которой заложены эллиптическія клѣтки“.

На расщипанныхъ препаратахъ Шабловскій изучалъ строеніе отдѣльныхъ составныхъ частей гриба, которыхъ онъ описываетъ дѣль: эллиптическія клѣтки и палочки. Первая имѣютъ однородную протоплазму съ одной или нѣсколькими вакуолями и часто носятъ на одномъ изъ концовъ почку, почему авторъ и считаетъ эти клѣтки во всемъ, кромѣ нѣсколькой меньшей величины, схожими съ клѣтками обыкновенныхъ пивныхъ дрожжей. Вторую часть, палочекъ, изъ которыхъ состоятъ волокнистая основа, онъ описываетъ какъ короткія, цилиндрическія клѣтки, то прямыя, то разнообразно-изогнутыя и оканчивающіяся иногда на одномъ концѣ шаровиднымъ утолщеніемъ, что онъ принимаетъ за оптической разрывъ клѣтки. Однѣ

палочки, по наблюденіямъ Шабловскаго, были прямыя или изогнутыя и неподвижныя, другія двигались быстро въ различныхъ направленіяхъ, и, по своему наружному виду, чрезвычайныя напоминали бактеріи, бывающія въ гниющихъ растворахъ бѣлковыхъ тѣлъ. Связующимъ элементомъ палочекъ и клѣтокъ онъ считалъ, на основаніи химическихъ реакцій, свернувшіеся казеинъ молока.

Кромѣ этихъ двухъ постоянныхъ составныхъ частей гриба, Шабловскій наблюдаетъ въ немъ присутствіе иногда еще плѣсневой формы, причѣмъ подъ микроскопомъ видны были цѣлые ряды прямоугольныхъ съ двойнымъ контуромъ клѣтокъ, опредѣленныхъ имъ, на основаніи развитія органовъ плодотворенія, какъ клѣтки *Penicillium*.

Въ началѣ 80-хъ годовъ появилась по этому вопросу работа Керна, доставившая своему автору извѣстность. Примѣненіе впервые всѣхъ извѣстныхъ тогда методовъ исследования и возможно полное, добросовѣстное изученіе объекта были причиной того, что и до настоящаго времени, данныя Керна, цитируются большинствомъ авторовъ, какъ положенія, вполне доказанныя.

Въ своихъ исследованияхъ Кернъ первый примѣнилъ окраску препаратовъ кефирнаго гриба и культивировку его въ различныхъ питательныхъ средахъ, для чего и предложилъ жидкость, по содержанію солей и молочнаго сахара близко подходящую къ молоку. Для срѣзовъ дѣлей Кернъ пользовался какъ препаратами расщипаннаго гриба, такъ и изученіемъ его культуры во влажныхъ камерахъ Фаминцина. По его исследованиямъ кефирное зерно состоитъ изъ золей бактерій, въ которыя вкраплены дрожжевыя клѣтки. Бактеріи имѣютъ видъ палочекъ цилиндрической формы съ равномерно-прозрачной протоплазмой. Длина этихъ палочекъ отъ 3,2—8 μ , ширина постоянна 0,8 μ ; онѣ обладаютъ самостоятельнымъ поступательно-вращательнымъ движеніемъ и, при обработкѣ по методу Коха, на одномъ концѣ виденъ двойной, тонкій жгутикъ. Размножаются палочки двойко: аргоспорно, при чемъ новообразованныя клѣтки или живутъ самостоятельной жизнью, или остаются въ связи съ материнской клѣткой; или эндоспорно, вырастая передъ спорообразованіемъ въ длинныя, согнутыя нити. Самый процессъ спорообразованія Кернъ описываетъ слѣдующимъ образомъ. На обоихъ концахъ каждой клѣтки появляются свѣтлыя точки, между которыми эта-

гивается плазма кльѣтки въ широкую полосу. Обѣ свѣтлыя точки увеличиваются, получают рѣзкіе контуры и переходятъ въ споры. Такимъ образомъ, въ каждой кльѣткѣ образуются, лежаща на противоположныхъ концахъ, круглыя споры, діаметръ которыхъ не превышаетъ діаметра кльѣтки.

Между спорами одной кльѣтки нельзя замѣтить перегородки, которая, напротивъ, ясно выступаетъ между отдѣльными кльѣтками. Основываясь на спорообразованіи, Кернъ далъ этому микроорганизму названіе *Dispora Caucasica* Kern. Вторую постоянную составную часть гриба — дрожжи, онъ описываетъ какъ кльѣтки эллиптическаго или сферическаго очертанія, величиною 3,1—9,6 μ , двухконтурныя и съ нѣсколькими вакуолями въ протоплазмѣ кльѣтки. Размножались онѣ почти исключительно почкованіемъ, и ему ни разу не удавалось наблюдать у нихъ спорообразованія. Дрожжевыя кльѣтки эти Кернъ считалъ за *Saccharomyces cerevisiae* и, на основаніи своихъ изслѣдованій, пришелъ къ слѣдующимъ выводамъ.

1. Кефирный грибокъ представляетъ примѣръ совмѣстной жизни дрожжевыхъ кльѣтокъ и бактерий.

2. Дрожжевыя кльѣтки — это обыкновенные *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Бактеріи, которыя въ вегетативной формѣ не отличаются ничѣмъ отъ сырной бактеріи, по способу спорообразованія должны быть выдѣлены въ особый видъ — *Dispora Caucasica*.

4. Двужущія кльѣтки *Dispora* на одномъ концѣ имѣютъ нѣжную, тонкую рѣсничку.

Данное Керномъ названіе *Dispora* удержалось въ литературѣ и по настоящее время, несмотря на многочисленныя возраженія послѣдующихъ изслѣдователей противъ описаннаго имъ способа спорообразованія, который и до сего времени стоитъ единичнымъ въ способѣ эндоспориана образованія у микроорганизмовъ бактеріальнаго характера.

Но неужно забывать, что Кернъ производилъ свои наблюденія на неокрашенныхъ препаратахъ, такъ какъ тогда не была еще извѣстна специфическая окраска на споры, которая одна только, какъ мы это знаемъ, можетъ рѣшить вопросъ о присутствіи споръ, въ слѣдовательно, къ этому положенію его работы нужно относиться съ извѣстной осторожностью и осмотрительностью.

Первый, кто оспаривалъ выводы Керна, былъ казанскій профессоръ Сорокинъ. Въ своихъ изслѣдованіяхъ онъ наблю-

далъ у кефирной палочки не двѣ, а неопредѣленное число споръ, почему онъ и отвергаетъ описанный Керномъ фактъ образованія двухъ споръ въ одной вегетативной кльѣткѣ. Кромѣ этихъ выводовъ Сорокинъ считалъ за постоянную составную часть гриба тѣ же дрожжевыя кльѣтки, какія описалъ Кернъ, и плѣсневую форму: *Oidium lactis*, за кльѣтки котораго онъ считаетъ цилиндрическія и многоугольныя кльѣтки, отнесенныя Керномъ, какъ это видно изъ рисунка, приложеннаго къ его работѣ, къ дрожжевымъ кльѣткамъ.

Въ это время, т. е. въ срединѣ 80-хъ годовъ, кефиръ знали уже видное мѣсто въ ряду терапевтическихъ средствъ; прежнее равнодушное отношеніе къ нему смѣнилось всеобщимъ увлеченіемъ. Къ этому же времени относится и большинство работъ о кефирѣ и производящемъ его броженіи.

Въ литературѣ стали встрѣчаться указанія, что не всѣ грибы вызываютъ соответственное броженіе въ молокѣ, и что нѣкоторые изъ нихъ вовсе не вызываютъ его. Грибки, не вызывающіе броженія, считали большими и негодными къ употребленію. Но изслѣдователи, не изучивъ хорошо ни морфологіи самаго бродила, ни химизма вызываемаго имъ броженія, кромѣ того, пользуются несовершенными методами изслѣдованія, впади въ цѣлый рядъ противорѣчій. Какъ на одну изъ причинъ такихъ противорѣчій можно указать на тотъ фактъ, что нѣкоторые изслѣдователи всякую неудачу въ броженіи объясняли плохимъ качествомъ бродила; игнорируя измѣненія во вѣдѣнныхъ условіяхъ, которыя, какъ мы знаемъ, играютъ большую роль въ броженіи.

Первыя свѣдѣнія о различіи состава здоровыхъ и больныхъ грибокѣвъ мы находимъ у Черновой-Поповой. „Здоровые грибки“, пишетъ она, „состоятъ изъ крупныхъ дрожжевыхъ кльѣтокъ и лишенныхъ движенія бактерій. У больныхъ замѣчается измѣненіе наружнаго вида дрожжевыхъ кльѣтокъ и значительное преобладаніе тоже лишенныхъ движенія бактерій“.

У слѣдующаго изслѣдователя, В. Подвысоцкаго, мы находимъ наиболѣе подробное описаніе морфологіи кефирнаго бродила, почему мы и приведемъ его болѣе подробно. Въ кефирномъ грибокѣ онъ описываетъ постоянное присутствіе двухъ составныхъ частей: дрожжевыхъ кльѣтокъ и бактерій; относительно спорообразованія послѣднихъ онъ утверждаетъ, что образованіе двухъ споръ не составляетъ непрѣмьнаго условія для кефирной бактеріи. Цилиндрическія и многоугольныя кльѣтки,

описаны Керном, как дрожжевая, он, как и Сорокин, считает за клетки плесени. Изучая расщипанный грибок, Подвысоцкий представляет себе следующее топографическое отношение его составных частей: каждый кефирный комочек он описывает, как свернувшееся в сферическую форму ложное, неправильно-истинное, очень упругое тело, на обращенной наружи поверхности которого помпачуются небольшие полиповые наросты, сидящие на тоненьких ножках. Микроскопическое исследование показало, что эти образования состоят, главным образом, из дрожжевых клеток, вся же остальная часть комочка из бактерий в стадии зооглеи. Кроме этих двух составных частей Подвысоцкий нашел еще третью часть, — круглая блестящая образования, которые он постоянно находил в периферических частях грибка и принимал их за споры бактерий. Касаясь в своей работе болезни кефирного брожения, Подвысоцкий, в противоположность Черновой, не считает одно лишь уменьшение числа дрожжевых клеток за признак негодности грибка, так как, при разсматривании под микроскопом больших т. к. и ослизнении комочков, видна слизевая масса, в которой заключены длинные нити бактерий и почти отсутствуют дрожжевые клетки. Свои исследования Подвысоцкий заканчивает попыткой получить из молока искусственное соежительство микроорганизмов кефирного брожения, подобное тому, какое существует в грибках. Он говорит, что ему удалось, в свернувшейся казеиной бродящего молока вызвать подобное соежительство микроорганизмов, причем эти комочки казеина обнаруживали наклонность к дальнейшему росту. К сожалению, автор не приводит ни методов, посредством которых он достиг этих результатов, ни дальнейшей судьбы этих зачаточных грибков, присутствие которых в свертках казеина можно было наблюдать только под микроскопом. „Не представляет ли собою кефирное брожение“, странным образом задает себе автор вопрос в конце своей работы, „в современном состоянии зерна примёр переходной стадии от низших грибов к высшим“.

Одновременно с Подвысоцким Крапальцев опубликовал свои результаты микроскопического исследования кефирного грибка. Как и предыдущий исследователь, он описал три постоянные составные части: споры, палочки и дрожжевые клетки. Первые были блестящими круглыми или яйцевидными

образованиями, чаще соединенными друг с другом по два, или же реже в длинные цепочки, и обладающими самостоятельным движением. Дрожжевые же клетки имели вид круглых или яйцевидных тел, находящихся в различных стадиях почкования. Описание же третьей составной части грибка — палочковидной бактерии значительно отличается от описаний предыдущих исследователей и страдает, как мы это сейчас увидим, несвязью и спутанностью изложения. Так прежде всего он различает 10 видов палочек: 1) прямые или согнутые палочки с равнобрюшно-преломляющей сферой протоплазмы и шаровидным утолщением на обоих концах; 2) нити, составленные из таких палочек; 3) палочки с тупыми концами; 4) нити из таких палочек; 5) плоская, широкая палочка с тупыми или шаровидно-вдутыми концами; 6) длинная нить без поперечных делений; 7) палочки с шаровидным утолщением на концах и сферным пятном по средине; 8) палочки с шаровидным утолщением на одном раздвоенном конце; 9) палочки с отшнуровавшимся шаровидным окончанием и 10) палочки, распадающиеся на цепочки подобных шаровидных тел. Шаровидные утолщения на концах палочек он считал за споры и признавал, подобно Керну, образование у каждой палочки 2-х спор. Палочки обладали самостоятельным поступательно-вращательным движением и не имели ресничек.

Кроме изучения микроскопических препаратов грибка, Крапальцев культивировал его в смеси Либиховского бульона, молочного сахара и желатин, прибавляемой для застывания смеси. Для этого он брал кусочек расщипанного, промывного грибка на покровное стеклышко, которое переносил на желатин. Через некоторое время, при микроскопическом наблюдении такого кусочка, он видел, что отдельные палочки вырастали из длинных нитей, распавшихся в свою очередь на отдельные палочки. Через 3—4 дня палочки эти или образовывали по две характерные споры или перетяжками распались на шаровидные образования, начиная же образовываться споры вновь исчезали. Процесс начинался образованием кучи быстро движущихся спор, прорастания которых он почти не наблюдал.

На основании такого описания нельзя себе составить точного представления о видных автором микроскопических картинах. Описание процесса спорообразования, основанное на

изучения неокрашенных препаратов, так же мало доказательно, как и всё предыдущая исследования; исчезновение же образующихся спор находится, как мы это знаем, даже в противоречии со научными данными бактериологии.

В работъ сдѣдующаго изслѣдователя, Stern'a, цитированной нами по реферату, мы находим впервые указаніе на постоянное присутствие въ кефирномъ грибокѣ, кромѣ бактерий и дрожжей, еще молочнокислой бактерии. Подробнѣе о присутствіи въ грибокѣ молочнокислой бактеріи мы читаемъ у Штанге. По его описанію грибокъ представляеть собой свернутую пластинку, нижній слой которой, гладкій, состоитъ изъ нитей и палочекъ кефирной бактеріи, верхній же, бугристый, изъ дрожжевыхъ кѣттокъ и палочекъ молочнокислой бактеріи. Въ постоянномъ присутствіи послѣдней въ периферическихъ частяхъ грибка, онъ убѣждался, какъ на окрашенныхъ по Граму срѣзахъ грибка, такъ и на культурахъ его съ желатини. Для этого Штанге переносилъ платиновой проволокой мельчайшую частичку грибка на желатину, на которой черезъ нѣкоторое время постоянно развивались характерныя, похожія на фарфоровыя ступки, колоніи *V. acid lactici*. Подъ микроскопомъ колоніи состояли изъ короткихъ неуклюжихъ, болѣею частью соединенныхъ по двѣ, палочекъ молочнокислой бактеріи. Въ описаніи дрожжевыхъ кѣттокъ и палочекъ кефирной бактеріи авторъ вполне согласенъ съ Керномъ.

Одновременно съ работой Штанге появились изслѣдованія профессора Московскаго университета Тихомирова, касающіяся морфологіи кефирной бактеріи. Въ своихъ выводахъ профессоръ доказываетъ неначность даннаго ей Керномъ названія *Dispora* и говоритъ, что, какъ по своему микроскопическому виду, такъ и по морфологіи этотъ микроорганизмъ ничѣмъ не отличается отъ обыкновенной сѣнной бактеріи: *Bacillus subtilis* Cohn.

О присутствіи *B. subtilis* въ кефирномъ грибокѣ говорить и современный намъ бактериологъ Massé. Цитируя *Bacillus kerphuricus* по Керну, какъ *Dispora Caucasica*, Massé находилъ въ препаратахъ расщипаннаго грибка присутствие *B. subtilis*, *V. lactici*, *Saccharomyces cerevisiae* и *V. butirici*.

Послѣднія свѣдѣнія о кефирномъ бродилѣ находимъ мы въ работѣ Дмитріева, относящейся къ 1894 году. Здѣсь мы должны оговориться, что первыя изслѣдованія Дмитріева относятся къ самому началу 80-хъ годовъ, мы же упоминаемъ о

нихъ въ самомъ концѣ очерка только потому, что имѣли въ своемъ распоряженіи лишь послѣднее изданіе, гдѣ авторъ сгруппировалъ всё свои наблюденія, почему мы и сочли болѣе удобнѣе описать ихъ всё вмѣстѣ. Преслѣдуя часто практическую сторону вопроса — кефиротерапію; авторъ въ описаніи морфологіи бродила, по болѣе части, цитируетъ изслѣдованія вышеприведенныхъ авторовъ. Изъ его личныхъ наблюденій приводимъ его взгляды на *Oidium lactis*, какъ на вредную примѣсь грибка и на преобладаніе въ значительной степени дрожжевыхъ кѣттокъ надъ бактеріями, какъ на признакъ негодности бродила, что, какъ мы видѣли, совершенно противорѣчить выводамъ Подвысоцкаго и Черновой. Изъ болѣеяго грибка онъ описываетъ окисаніе, при которомъ подъ микроскопомъ видно значительное увеличеніе числа бактерій и уменьшеніе дрожжевыхъ кѣттокъ въ числѣ, и оснианіе, сущность котораго онъ принимаетъ, по Гобіи, въ разложеніи грибка бактеріей молочнокислаго броженія.

Изъ приведеннаго нами литературнаго очерка видно, что всё почти изслѣдователя согласны въ своихъ выводахъ о строеніи грибка. Такъ всё они считаютъ постоянной составной частью грибка дрожжевыя кѣттки и палочковидную бактерію. Кромѣ этихъ микроорганизмовъ Подвысоцкій, Краганьель, Stern, Штанге и Massé встрѣчали въ грибокѣ еще третій видъ, круглыя, бѣстѣнная тѣла, которыя Подвысоцкій и Краганьель признали за споры кефирной бактеріи, а Stern и Massé — за молочнокислую бактерію. Разногласіе у различныхъ изслѣдователей замѣчается почти исключительно въ описаніи морфологіи кефирной бактеріи, причемъ сами эти описанія, основанныя на одномъ лишь микроскопическомъ наблюденіи и относящіяся къ тому времени, когда не существовало еще болѣе точныхъ методовъ бактериологическаго изслѣдованія, — должны быть приняты съ большою осторожностью.

Перейдемъ теперь къ изученію бактеріальнаго населенія пластинка, получаемаго при помощи кефирнаго грибка изъ коровьяго молока, — кефира.

Пока мы укажемъ работъ, касающіяся только его бактеріальнаго состава, которыя въ противоположность вышеописаннымъ изслѣдованіямъ, крайне немногочисленны. Первый изъ изслѣдователей, Шабловскій, нашелъ въ хорошо приготовленномъ кефирѣ палочковидныя бактеріи, очень немногочисленныя и лишеныя движенія, что онъ считалъ признакомъ ихъ

смерти; въ кефирѣ же, дурно приготовленномъ, напротивъ, было много быстро движущихся бактерий, которыя авторъ считаетъ за живыя. Выводы автора, основанные на такомъ невѣрномъ фактѣ, какъ отсутствие движенія у однихъ только мертвыхъ бактерий; изгнѣютъ для насъ лишь исторической интересъ.

Слѣдующее описаніе микроорганизмовъ кефира принадлежитъ Сорокину, который пишетъ, что въ кефирѣ присутствуютъ тѣ же микроорганизмы, что и въ кумысѣ. И въ томъ и въ другомъ онъ находилъ дрожжевыя кѣтки и маленькія, часто соединенныя по двѣ или въ перекрестіи по среднѣ палочки, обладающія разнообразнымъ движеніемъ и непохожія на молочнокислую бактерію Пастѣра. Такимъ образомъ, Сорокинъ пишетъ въ кефирѣ не описанную имъ въ грибахъ кефирную бактерію, а новый микроорганизмъ. Этого послѣдній, судя по описанію Сорокина, похожъ на молочнокислую бактерію, хотя самъ Сорокинъ отрицаетъ это. Движеніе же, которое не обладаетъ молочнокислая бактерія и которое Сорокинъ видѣлъ у описаннаго имъ микроорганизма, могло быть и Броуновскимъ.

Не останавливаясь на описаніи Черновой, не разобравшей даже въ видѣнной ею микроскопической картинѣ, перейдемъ къ работѣ Подвысоцкаго, гдѣ мы находимъ наиболее полное описаніе бактериальнаго населенія кефира. "Въ молокѣ, гдѣ происходитъ кефирное броженіе", говоритъ онъ, "кромя обыкновенныхъ бактерий, сопровождающихъ всякое заквашиваніе молока, мы видимъ разсыянные отдѣльныя споры и кефирныя бактеріи, отличить же подъ микроскопомъ оба эти вида бактерий невозможно. Кромѣ нихъ въ кефирѣ постоянно присутствуютъ въ большомъ количествѣ и дрожжевыя кѣтки. Количество микроорганизмовъ зависитъ отъ продолжительности и силы кефирнаго броженія. Въ началѣ броженія, въ такъ называемомъ слабомъ кефирѣ, общее количество микроорганизмовъ значительно меньше, чѣмъ въ концѣ броженія, въ такъ называемомъ крѣпкомъ кефирѣ". Изъ этого описанія видно, что авторъ пишетъ въ кефирѣ тѣ же составныя части, какъ и въ кефирномъ грибѣ: дрожжевыя кѣтки, кефирныя бактеріи, споры ихъ и, кромѣ того, еще новый видъ, который онъ описалъ крайне неопредѣленно, какъ бактерію кислаго молока. Непонятнымъ остается, какъ могъ авторъ констатировать присутствіе обохъ видовъ бактерий, разъ онъ самъ

говорить, что подъ микроскопомъ оба эти вида не представляли никакого различія. Поэтому, вѣроятно нѣсколько позднѣе, Подвысоцкій высказываетъ предположеніе, что кефирная бактерія является однимъ изъ видовъ молочнокислой бактеріи, находящей постоянно въ киснемъ молокѣ. Къ этому взгляду присоединился и Цондъ, утверждающій, что отличительный признакъ кефирной бактеріи — присутствіе въ ней двухъ споръ — свойственъ и многимъ другимъ бактеріямъ.

Совершенно особакомъ въ литературѣ стоятъ мнѣнія слѣдующаго изслѣдователя, Струве. Изслѣдуя микроскопически осадокъ, полученный имъ при обработкѣ бутылочнаго кефира амміакомъ и разбавленнымъ растворомъ ѣдкаго кали, онъ нашелъ, что этотъ осадокъ состоитъ только изъ дрожжевыхъ кѣтокъ. На этомъ основаніи Струве отвергаетъ совсѣмъ существованіе кефирной бактеріи. Послѣ цѣлаго ряда не описанныхъ имъ опытовъ, онъ пришелъ къ слѣдующимъ выводамъ:

- 1) При помощи растительной силы и на основаніи осмотическихъ явленій дрожжевые грибки, въ періодѣ броженія, способны проникать черезъ органическія растительныя и животныя ткани, подвергая ихъ при этомъ замѣтнымъ измѣненіямъ.
- 2) Развитие дрожжевыхъ грибковъ внутри органическихъ тканей можетъ принять характеръ особаго процесса разрастанія.
- 3) Послѣдствія процесса разрастанія становятся замѣтнѣе при условіяхъ, препятствующихъ свободному выдѣленію углекислоты.
- 4) Органическія ткани, проросшія дрожжевыми грибами, могутъ замѣнять кефирныя зерна при приготовленіи напитка и вызываютъ, какъ въ растврѣ сахара, такъ и въ молокѣ вѣ явленія спиртового броженія.
- 5) Образованіе кефирнаго бродила составляетъ какой-то особенный процессъ разрастанія дрожжевыхъ грибковъ въ соединительной ткани бурдюка при условіяхъ, препятствующихъ свободному выдѣленію углекислоты.
- 6) Дѣйствіе углекислоты обуславляетъ сморчкообразный видъ сѣвжаго кефирнаго бродила.
- и 7) Бактерія *Dispora Caucasica* Керна есть не что иное, какъ остатки волоконцевъ соединительной ткани бурдюка.

Выводы Струве были въ скоромъ времени опровергнуты изслѣдованіямъ Подвысоцкаго, состоявшими въ слѣдующемъ. Онъ выразилъ изъ стѣнки давно употреблявшагося для

Историческія и медицинскія науки
5785

1936.

1820.0

Имп. НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
1-го Харьк. Мед. Института

кефира бурдюка небольшие кусочки, и послѣ уплотненія дѣлать бритвою срѣзы. Микроскопическое изслѣдованіе окрашенных препаратовъ показало, что со стороны волосистой поверхности кожицы нѣтъ, сохранился Мальпигиѣвъ слой съ разсыянными кое-гдѣ луковичами волосъ. Вся толща срѣза состоитъ почти исключительно изъ неправильно и тѣсно переплетенныхъ между собою волоконцевъ. Соприкасающаяся съ молокомъ поверхность свободна отъ проростанія дрожжевыхъ клѣтокъ, и только въ трещинахъ ея, на вѣтвѣхъ уничтоженія всего эпителиальнаго слоя, видны скопленія микрорганализмовъ. Снаружи, въ поверхностныхъ слояхъ бурдюка разрастается между волоконками соединительной ткани нить микелии *Oidii lactis*. Всѣ кефирныя зерна плаваютъ свободно въ молокѣ; нигдѣ нельзя было замѣтить связи ихъ со стѣнкой бурдюка. Наконецъ, обработывая разлчными реактивами волокна соединительной ткани бурдюка, Подвысоцкій убѣдился въ полномъ отсутствіи сходства ихъ съ кефирной бактеріей. Свои выводы авторъ заканчиваетъ подтвержденіемъ постоянного присутствія въ каждой каплѣ кефира большого количества кефирныхъ бактерій.

Намъ остается сказать объ образованіи въ молокѣ зооглеи кефирной бактеріи, указанномъ въ работѣ Сорокина.

„Послѣ всзбалтыванія жидкости“ пишетъ онъ, „микроорганизмы располагаются на стѣнкахъ сосуда, рѣснички у нихъ втягиваются и они удлиняются въ нити; выдѣляющаяся же при этомъ въ большомъ количествѣ слизь окружаетъ ихъ на подобіе футляра. Вслѣдъ за этимъ каждая нить распадается на отдѣльные членики, такъ что образуется зооглея изъ палочекъ, окруженная слизью. Иногда же вмѣсто образованія зооглеи палочка даетъ споры, прорастающія вновь въ длинную нить“. Наблюденія Сорокина единичны и не подтверждены никѣмъ изъ остальныхъ изслѣдователей.

Наложивъ литературныя данныя по вопросу о микрорганализмахъ кефира, перейдемъ къ описанію существовавшихъ и существующихъ въ литературѣ взглядовъ на самый процессъ кефирнаго броженія.

Какъ химизмъ его, такъ и образующіеся при этомъ продукты броженія послужили предметомъ изученія многихъ изслѣдователей съ перваго знакомства съ кефиромъ. Такъ, еще Сивовичъ указываетъ на образованіе при кефирномъ броженіи молочной кислоты, спирта, углекислоты и слѣдовъ бутировой кислоты. Вслѣдъ за нимъ Шабловскій, на основаніи своихъ

собственныхъ изслѣдованій, изложеніе которыхъ онъ, къ сожалѣнію, не приводитъ, описываетъ значительно подробнѣе возникающіе при кефирномъ броженіи процессы. Соглашаясь съ Сивовичемъ, онъ нашелъ, что казеинъ, жиры и соли молока не претерпѣваютъ при кефирномъ броженіи никакихъ измененийъ. Образованіе спирта и углекислоты, т.-е. спиртовое броженіе молока, Шабловскій объясняетъ присутствіемъ въ кефирѣ въ видѣнныхъ имъ эллиптическихъ клѣтокъ.

Съ этимъ мнѣніемъ Шабловскаго былъ не согласенъ Сорокинъ, который приписывалъ всю роль въ кефирномъ броженіи одной кефирной бактеріи, остальные же микроорганизмы считалъ только спутниками этой бактеріи. Эти выводы Сорокина не были проверены опытомъ и явились только теоретическимъ разсужденіемъ.

Къ срединѣ 80-хъ годовъ относится наибольшее число работъ, трактующихъ о химизмѣ кефирнаго броженія. Изъ нихъ въ работѣ Соболева мы находимъ слѣдующее: молочный сахаръ подвергается сначала молочному, а потомъ спиртовому броженію. Казеинъ молока частью свертывается въ видѣ мелкихъ, рыхлыхъ хлопьевъ, частью растворяется въ сывороткѣ, и, наконецъ, извѣстная часть его, вмѣстѣ съ альбуминозу молока претрачивается въ гемальбуозу. Соли и жиры при этомъ не изменяются. Дѣйствію молочной кислоты авторъ приписываетъ осажденіе казеина мелками, нѣжными хлопьями и раствореніе части его въ сывороткѣ.

Эти выводы, равно какъ и выводы большинства послѣдующихъ изслѣдователей, не имѣющие экспериментальнаго основанія, представляются для насъ малоубѣдительными. Но тѣмъ большее значеніе приобретаетъ работа Садовена, выводы котораго основаны на собственныхъ изслѣдованіяхъ. Въ этой работѣ авторъ подробно описываетъ какъ употреблявшіеся имъ методы, такъ и тѣ выводы, къ которымъ онъ пришелъ, основываясь на этихъ изслѣдованіяхъ.

При кефирномъ броженіи Садовенъ нашелъ постепенное уменьшеніе количества молочнаго сахара и образованіе въ соотвѣствующихъ количествахъ продуктовъ его расщепленія: молочной кислоты, спирта и углекислоты. Онъ не нашелъ измененийъ въ количествѣ бѣлковыхъ веществъ молока, претерпѣвающего кефирное броженіе, оно остается то же, что и въ свѣжемъ молокѣ, образованіе же пептона, если и происходитъ,

то въ крайне незначительныхъ размѣрахъ. Образование спирта и углекислоты Садовень приписываетъ дѣятельности дрожжевыхъ клетокъ, на долю же бактерий оставляетъ образование изъ молочнаго сахара молочной кислоты.

Съ выводами автора о неизвѣстности бѣлковыхъ веществъ молока при кефирномъ броженіи, большинство исследователей не было согласно; однако-же положенія, противрѣчающія этому, основаны были только на теоретическихъ соображеніяхъ. Причину дѣлебнаго дѣйствія кефира они видѣли въ пептонизаціи его бѣлковъ, хотя самый фактъ образования здѣсь пептоновъ основанъ лишь на аналогіи, существующей въ подобныхъ химическихъ процессахъ.

Въ своемъ описаніи продуктовъ кефирнаго броженія молока, Подвысоцкій гриваетъ, во-первыхъ, спиртовое броженіе молочнаго сахара, состоящее въ разложеніи одной части сахара на углекислоту и спиртъ и, вторыхъ, молочнокислое броженіе, состоящее въ расщепленіи другой части сахара на четверное число частицъ молочной кислоты. Казеинъ молока, по мнѣнію Подвысоцкаго, свертывается; вполнѣдствіи же или частью растворяется въ сывороткѣ, или частью превращается вмѣстѣ съ альбуминомъ молока въ геміяльбумозу. Разложеніе сахара на углекислоту и спиртъ есть дѣло дрожжевыхъ клетокъ, расщепленіе же сахара на молочную кислоту и пептонизація бѣлковъ — дѣло бактерий. Остается только неизвѣстнымъ, которому виду изъ описанныхъ авторомъ въ кефирѣ бактерий принадлежитъ эта роль, такъ какъ наравнѣ съ кефирной бактеріей, Подвысоцкій постоянно наблюдаетъ въ кефирѣ присутствіе бактерий, находящихся въ скисшемъ молокѣ.

Объясняюмъ, какъ отъ этихъ, такъ и отъ послѣдующихъ выводовъ, стоитъ мнѣніе Струве, что однѣ дрожжевыя клетки вызываютъ въ молокѣ всѣ процессы кефирнаго броженія, но мнѣніе это лишено какихъ бы то ни было научныхъ доказательствъ.

Большой научный интересъ представляютъ разсужденія слѣдующаго за Струве исследователя Нюерре, известнаго своими исследованиями о броженіи молока. Для происхожденія кефирнаго броженія онъ считаетъ необходимымъ присутствіе трехъ видовъ микроорганизмовъ: молочнокислой бактеріи, Керновской Дизрога и дрожжей. Молочнокислая бактерія переводятъ часть сахара въ молочную и угольную кислоты, другая часть его переводится дрожжами въ спиртовое броженіе; Дизрога

Керп же растворяетъ казеинъ и пептонизируетъ его. Изъ этого описанія видно, что авторъ первый поставилъ молочнокислое броженіе въ кефирѣ въ зависимость отъ молочнокислой бактеріи; намъ только кажется непонятнымъ, почему онъ относитъ образование угольной кислоты не къ спиртовому, а къ молочнокислому броженію. За работой Нюерре мы встрѣчаемъ очень схожія по выводамъ исследования Stern'a, Neuss'a и Kuhn'e, съ которыми мы могли познакомиться, къ сожалѣнію, только по рефератамъ. Всѣ эти исследователи признаютъ переходъ части бѣлковъ молока при кефирномъ броженіи его въ геміяльбумозу и пептоны, причемъ Sternъ считаетъ причиной пептонизаціи молочнокислую бактерію, Kuhn'e же и Neussъ приписываютъ это одной кефирной бактеріи. Neussъ проводилъ свои предположенія слѣдующими исследованиями: онъ производилъ анализы бѣлковъ кефира и молока, обработаннаго соляной кислотой, и въ первомъ случаѣ наметъ пептонъ, котораго не оказалось при исследованіи молока.

Въ вѣсколько отличныхъ выводахъ пришли Levy и Beyerink. По мнѣнію первого, кефирное броженіе зависитъ только отъ присутствія молочнокислой бактеріи, остальные же микроорганизмы грибка совершенно лишніе въ кефирномъ броженіи. Въ доказательство такого мнѣнія онъ привелъ результаты исследования кефира, гдѣ онъ не находилъ остальныхъ микроорганизмовъ; изъ грибка въ молоко Дизрога Керп не переходила совсѣмъ, дрожжи же переходили въ очень незначительномъ количествѣ.

Къ противоположному результату пришелъ второй исследователь Beyerink. Онъ отвергаетъ присутствіе въ кефирѣ молочнокислой бактеріи и причиной образованія молочной кислоты считаетъ кефирную бактерію; дрожжевыя же клетки, по его мнѣнію, производятъ ферментъ, переводящій молочный сахаръ въ глюкозу и галактозу.

Дрожжевыя клетки въ кефирныхъ грибкахъ Beyerinck, на основаніи ихъ морфологіи и химическаго дѣйствія, считаетъ не за *Saccharomyces cerevisiae*, а за особую разновидность этой формы, встрѣчающуюся только при кефирномъ броженіи и названную имъ *Saccharomyces kephyrus*.

Къ сожалѣнію, мы не могли достать въ подлинникѣ эту работу Beyerinck'a, считающагося наиболее компетентнымъ исследователемъ по вопросу о броженіи вообще; въ мнѣніемъ же у насъ краткомъ рефератѣ вовсе не указаны тѣ

особенности морфологии, на основании которых автор считает необходимым выделить в отдельный вид найденный им в кефирном грибок дрожжевая клетка. Что касается до специфичности химического действия этого нового вида дрожжевых клеток на молоко, то, как мы увидим ниже, этому несколько даже противоречат описания нами исследованиями авторов, получивших с помощью обыкновенных пивных дрожжей, состоящих как известно, из *Saccharomyces cerevisiae*, спиртового брожения молока.

Из остальных работ по этому вопросу наибольший интерес представляет работа Билля. В ней автор указывает на неотъемлемую пиквиз еще особенность казеина кефира. Оказывается, что в кефире казеин лишен большей части солей, так что в казеин из молока Билль получал 10% солей, тогда как в казеин кефира, количество солей колебалось от 2—3%. Для получения солей он сжигал высушенный и лишенный жира казеин, при чем замечил, что кипячение молока не оказывает никакого влияния на количество присутствующих в казеине солей. Кроме открытия вышеописанного факта Билль приводит в своей работе анализ различных сортов кефира с описанием употребляемых им методов.

Из этих анализов видно, что количество казеина и альбумина во время брожения постепенно, хотя и в очень незначительной степени, уменьшается; количество же пептона и гемальбумозы возрастает в значительно большей степени. В кефир, приготовленном из кипяченого молока, он не находил альбумина и предполагал, что альбумин завешивается вместе с казеином. В конце своих исследований Билль пришел к следующим выводам: казеин в кефире находится в суспендированном состоянии, отчасти же растворен и может быть тогда выделен только выпариванием фильтрата от казеина, альбумина и ацидабумина; количество же казеина во все время брожения уменьшается. Пептонизация Билль не признает, а придает большое значение переходу бѣлков в гемальбумозу, главную же причину усоземости и пѣлбного свойства кефира видит в отделении солей от казеина.

Описываемый Биллем факт касается весьма важного в химии молока вопроса о содержании солей в казеине при его свертывании. Самый вопрос этот стоит до сих пор

открытым, и как в химии молока, так и вообще в химии мы не находим никаких определенных по этому поводу указаний. Только Гоппе Зейлер указывает на то, что осажденный уксусной кислотой казеин содержит много солей.

У Мороховца мы находим описание нескольких способов получения безольного казеина, но употребляемые при этом методы настолько сложны, что не могут быть положены в основу естественных химических процессов, совершающихся в бродащем молоке. Так по Hammarsten'у для получения казеина с большим содержанием солей нужно осадить его, обработав молоко одним из следующих способов:

- 1) Разбавленное 3—4 объемами воды молоко фильтруют через плотный фильтр и выдѣляют глобулин или кислотами, или солями.
- 2) Свежее молоко, разбавленное 2—10 объемами воды, обрабатывают эфиром.
- 3) Осаждают молоко солями и повторно растворяют и осаждают ту же солью осадок.
- 4) Осаждают казеин углекислотой в насыщенной ею водѣ.
- 5) Осаждают его сѣрнокислым аммонием.
- 6) Подкисленное молоко для осаждения насыщают солью. Для получения же безольного казеина нужно выдѣленный одним из вышеописанных способов казеин растворить в слабой 1—2% соляной кислотѣ и диализировать в фильтрах-диализаторах, причем через 16 или 24 часа выдѣляется безольный осадок.

Ни один из вышеприведенных методов не может иметь мѣста при кефирном брожении молока.

Кромѣ Hammarsten'a Данилевскій указывает на способ получения казеина с большим содержанием солей. Способ этот состоит в обработке разбавленного 4 объемами воды снятого молока очень разбавленной соляною кислотой, промывании осадка в воде, растворении в амиакѣ и осаждении соляной кислотой, вторичном промывании водой, спиртом и эфиром.

Вот и все, что мы могли найти в литературѣ по вопросу, интересующему нас. Через два года послѣ работы Билля, Боголюбовъ дал новое объяснение происхождению молочнокислого брожения при получении кефира. Причину его образования он видит в ферментѣ *Oidium lactis*, постоянно при-

ствующаго въ кефирѣ. Въ остальныхъ своихъ выводахъ онъ согласенъ съ большинствомъ исследователей. Такъ, спиртовое броженіе онъ объясняетъ дѣятельностью дрожжевыхъ клѣтокъ; бактеріямъ же придаетъ значеніе въ пептонизаціи бѣлковъ. „При кефирномъ броженіи“, пишетъ Боголюбовъ, „въ молоко образуется алкоголь, угольная кислота, геміальбумоза и пептонъ. Казеинъ же, свернувшійся подъ вліяніемъ молочной кислоты въ мелкія, нѣжныя хлопья, обволакиваетъ капельки жира, которыя, при частомъ взбалтываніи, еще болѣе размельчаются и эмульсируютъ жидкость.“

Но выводы Боголюбова, лишенные научныхъ доказательствъ и основанные, болѣею частью, на выводахъ предшествующихъ исследователей, не могутъ имѣть сколько-нибудь важнаго значенія. Гораздо большую цѣну представляетъ мнѣніе Jørgensen'a, приведенное въ его изслѣдованіяхъ о броженіи вообще. Авторъ говоритъ, что молочнокислая бактерія производитъ молочнокислое броженіе молока, дрожжевыя клѣтки — спиртовое броженіе, бациллярной формѣ онъ приписываетъ переводъ бѣлковъ въ растворенное состояніе и пептонизацію ихъ.

Намъ остается сказать только о выводахъ д-ра Дмитріева, представляющихъ лишь свѣдѣ господствующихъ въ литературѣ мнѣній по вопросу о кефирномъ броженіи.

- 1) „Жиръ, соли и вода“ пишетъ Дмитріевъ, „остаются безъ измѣненій, а если и измѣняются, то въ очень незначительной степени.
- 2) „Количество молочнаго сахара постепенно уменьшается.
- 3) „Появляются молочная кислота, алкоголь и углекислота.
- 4) „Часть казеина переходитъ въ альбуминъ и пептонъ, часть въ геміальбумозу, а остальной казеинъ лишается известнаго дѣлается удобоваримѣе.“

„Причина же кефирнаго броженія лежитъ въ молочнокислой бактеріи, дающей молочнокислое броженіе, въ дрожжевыхъ клѣткахъ, образующихъ спиртъ и углекислоту и въ діастазахъ, выделяемыхъ бактеріями и пептонизирующихъ казеинъ.“

Мы приводимъ полностью слова Дмитріева, такъ какъ они представляютъ намъ современное ученіе о процессѣ кефирнаго броженія.

Посмотримъ теперь, какіе методы существуютъ для полученія этого броженія въ молоко.

Первоначальный способъ полученія броженія, употребляю-

щийся и теперь на роднѣ кефира, состоитъ, какъ мы знаемъ, въ слѣдующемъ. Въ посуду съ молокомъ (на роднѣ кефира посуду замѣняютъ бурдюкомъ) бросаютъ кефирный грибокъ и производятъ частое встряхиваніе жидкости. Черезъ нѣкоторое время, различное, смотря по внѣшнимъ условіямъ, въ молоко развивается броженіе. Брожденое молоко сливаютъ и называютъ опять свѣжее молоко и т. д., поддерживая такимъ образомъ броженіе.

Но вскорѣ этотъ способъ былъ нѣсколько видоизмѣненъ. Такъ Шабловскій уже пишетъ, что сливавшееся съ кефирныхъ зеренъ молоко наливалось въ бутылки и плотно закупоривалось. При такомъ способѣ наблюдалось значительное усиленіе спиртоваго броженія молока.

Въ 1882-мъ году Дмитріевъ предложилъ свой способъ приготовления кефира, состоявшій въ слѣдующемъ. Брожденое молоко, слитое съ кефирныхъ зеренъ, разливалось въ бутылки и разбавлялось двойнымъ объемомъ свѣжаго молока. Черезъ нѣкоторое время въ такихъ закупоренныхъ бутылкахъ развивалось кефирное броженіе. Способъ этотъ быстро получалъ, вслѣдствіе хорошихъ результатовъ, почти всеобщее употребленіе.

Но уже въ слѣдующемъ году Подвисоцкій описалъ новый способъ, по своей несложности и простотѣ техники имѣющій большое преимущество передъ способомъ Дмитріева и названный имъ бутылочнымъ, въ отличіе отъ первоначальнаго. Для вызванія броженія въ свѣжемъ молокѣ, авторъ пользовался готовымъ уже кефиромъ, разбавляя его въ два раза молокомъ. Часть получающагося при этомъ новаго кефира служила закваской для слѣдующей порціи молока и т. д. Такимъ образомъ, ему удавалось, имѣя всего одну бутылку кефира, готовить въ продолженіе нѣсколькихъ мѣсяцевъ этотъ напитокъ. Противъ такого метода приготовления кефира возражалъ Дмитріевъ. „Кефирное броженіе“, писалъ онъ, „зависитъ не только отъ діастазовъ грибка, но также и отъ мельчайшихъ его частичекъ, находящихся въ брожденцѣмъ молокѣ. При бутылочномъ способѣ приготовления кефира, вслѣдствіе постоянной смѣны молока, въ отдѣльныхъ бутылкахъ будетъ оставаться все меньше и меньше такихъ частичекъ, а вмѣстѣ съ тѣмъ будетъ измѣняться и характеръ самаго броженія“. Въ своемъ опроверженіи Дмитріевъ упустилъ изъ виду, что эти мельчайшія частички грибка, перешедшія въ брожденое

молоко, при постепенной смене его в свою очередь будут энергично расти и размножаться, а вместе с этим, следовательно, будут постоянно поддерживать на известной высоте качество и интенсивность кефирного брожения.

Кроме вышеприведенных, так сказать, естественных методов получения кефира, некоторые исследователи получали схожее брожение молока, не употребляя кефирного бродила. Так еще С. П. Боткин предлагал для этого прибавлять в молоко сахару и обыкновенных дрожжей. Подвысоцкий для усиления спиртового брожения кефира советовал прибавлять к нему немного пивных дрожжей. Садовень вызывал брожение в молоке казенном старого кефира, отделившимся от сыворотки процеживанием, промытым водой и спиртом и высушенным в порошок. Впрочем, автор отмечает частое отсутствие при таком брожении спирта и углекислоты. Причину отсутствия спиртового брожения, по нашему мнению, нужно видеть в вредном влиянии такой химической обработки на дрожжевые клетки, находящиеся в свернувшемся казеине.

Следующий исследователь, Скловский, для брожения молока прибавлял к нему воды и сахара и кидал в молоко сначала немный кашмиш, а потом обыкновенный пивная дрожжи.

Кашмиш здесь играл роль переносчика находящихся на его поверхности дрожжевых клеток; кроме того, очевидно, здесь имело место произвольное скисание молока, без чего невозможно химическое действие дрожжей. Совершенно иначе поступал Леву, заквашивая 1 частью кислого молока 10 частей кипяченого, т. е. вызывая молочнокислое брожение молока; спиртовое же брожение могло присоединиться только при случайном попадании из воздуха дрожжевых клеток.

Часто теоретически рассуждения последнего автора по этому вопросу, Вегеринка, мы приводим потому, что в основу их лежат вполне научные требования химии и бактериологии. А именно, убедясь в крайней неумичности химических свойств кефира, он высказывает убеждение, что мы будем только тогда иметь напиток постоянного состава, когда нам удастся приготовить его из чистых культур, прививая их в стерилизованное молоко.

Относительно того, какое молоко нужно употреблять для приготовления кефира, большинство исследователей предпочитают кипяченое молоко, сырое, даже разбавленное водою.

Изучая кефирное брожение молока, все исследователи руководились для его определения одними внешними качествами. Наши органы чувств были единственным критерием качества приготовляемого напитка, и очень немногие из исследователей, как мы это видели, производили точный химический (качественный и количественный) анализ. Но, руководствуясь одними внешними признаками, все исследователи тем не менее, были всегда согласны в предъявляемых им к напитку требованиях. Так первый исследователь, Сивович, считает кефиром однородную, принимающую жидкость, кислотоватого запаха и вкуса. Ть же почти требования предъявляет к кефиру и Подвысоцкий через 16 лет после Сивовича. „Хорошо приготовленный кефир“, пишет он, „должен представлять сильно принимающую жидкость консистенции сливок, приятного кислотоватого вкуса и запаха. При покойном положении сосуда с кефиром жидкость должна разделяться на два слоя: верхний — свернувшийся казеин и нижний — прозрачная сыворотка, смешивающаяся при взбалтывании жидкости в однородную эмульсию“.

Наконец, современное описание свойств кефира читаем мы у Дмитриева. Кефир, согласно его наблюдениям, должен быть белого цвета, густоты жидкой сметаны, пивного кислотоватого, слегка циплюющего вкуса, — должен пивиться на подобие пива. В стоявшей покойно бутылке с кефиром часто образуются в последнем два слоя: верхний — сыворотка и нижний — свернувшийся казеин; при взбалтывании же получается опять однородная эмульсия.

Как мы видим, основные требования к кефиру остаются одни и те же, начиная с первых шагов нашего знакомства с ним и кончая современным положением вопроса.

Из приведенных нами, как прямо протививших мнений различных исследователей о химии кефирного брожения мы позволяем себе вывести следующее заключение.

Почти все авторы рассматривают кефирное брожение, как сложный химический процесс, в который входят молочнокислое и спиртовое брожение. Последнее все они объясняют жизнедеятельностью дрожжевых клеток; в происхождении же молочнокислого брожения взгляды их несколько расходятся. Одни, и таких меньшинство, считают причиной образования молочной кислоты молочнокислую бактерию; это, главным образом, доказывают Hueppe, Stern и Леву. Осталь-

ные приписывают эту роль бациллярной формѣ кефирнаго грибка — кефирной бактеріи. Особнякомъ стоитъ мнѣніе Боголюбова, который придаетъ то же значеніе ферменту *Oidii lactis*. Отдѣльнаго тоже мнѣнія о кефирномъ броженіи держатся Сорокинъ и Струве. Оба они считаютъ возбудителемъ кефирнаго броженія всего одну бактеріальную форму: Сорокинъ — *V. kerfugicus* и Струве — дрожжевыя клѣтки.

Гораздо болѣе согласія представляютъ отдѣльныя мнѣнія о продуктахъ, образующихся при кефирномъ броженіи молока. Здѣсь всѣ изслѣдователи признаютъ постоянное образованіе молочной кислоты, спирта, углекислоты. Нѣкоторая разница замѣчается только въ толкованіи объ измѣненіи бѣлковъ. Большинство признаетъ переходъ части бѣлковъ въ пептоны, чѣмъ и объясняетъ терапевтическое значеніе кефира, тогда какъ немногіе, опираясь главнымъ образомъ на свои собственные изслѣдованія, почти не признаютъ факта пептонизаціи бѣлковъ при кефирномъ броженіи и, наконецъ, Биль, единственный, указываетъ на наблюдавшійся имъ фактъ отщепленія солей въ казеинѣ кефира.

Бактеріологическое изслѣдованіе.

Полученный нами изъ аптекарскаго магазина Феррейна кефирный грибокъ, по наружному виду вполне соответствовалъ описанію прежнихъ изслѣдователей.

Вегетива въ молокѣ, грибки эти вызвали постоянно кефирное броженіе, почему мы и считали ихъ здоровыми, годными къ употребленію и относили полученные нами выводы исключительно лишь къ здоровымъ грибокѣмъ. Изслѣдованные нами грибки представляли въ сухомъ состояніи небольшіе, желтовато-бѣлые комочки самаго разнообразнаго очертанія. Меньшіе изъ нихъ, по виду и цвѣту, были, дѣйствительно, похожи, какъ мы это встрѣчаемъ у многихъ авторовъ, на высохшія хлѣбныя зерна; большіе же, не превышающіе у насъ въ діаметрѣ 2 см., казались составленными изъ нѣсколькихъ такихъ меньшихъ комочковъ. Консистенція ихъ была твердая, хрусткая, поверхность маслянистая, мелкобугристая, и они обладали характернымъ кислотнымъ запахомъ летучихъ жирныхъ кислотъ.

Нѣкоторые грибки имѣли видъ тоненькихъ скрученныхъ пластинокъ, у которыхъ обращенная снаружи поверхность была аспо бугровата; при незначительномъ насліи грибки эти легко разламывались. Въ водѣ они постепенно бѣлѣли, объемъ ихъ увеличивался въ 2—3 раза, консистенція изъ твердой и хрупкой становилась мягкой, упругой. Скрученные пластинки распрямлялись, болѣе же крупныя комочки имѣли сходство съ головками цѣстной капусты.

Познакомившись съ наружнымъ видомъ грибка, мы перешли къ изученію его строенія. Изученіе это мы начали съ простѣйшей формы, въ какой бываетъ бродило, описанной уже нами пластинки. Размоченная въ водѣ пластинка эта имѣетъ видъ толстой, снѣжно-бѣлой, очень упругой пленки, одна изъ поверхностей которой имѣетъ аспо выраженную бугроватость.

Бугорки эти отличаются от поверхности пленки слегка желтоватым цветом. Если мы станем расщипывать такую пластинку, то увидим следующее. Бугорчатости легко удаляются с поверхности пленки. Девизом скальпеля можно соскоблить их со всей поверхности пленки в вид кашцеобразного слоя, при чем обнажается блестящая, глянцевитая, гладкая, сибжно-блкая поверхность пленки. Такой же кашцеобразный слой можно соскоблить и с противоположной поверхности пленки, только онъ здесь значительно тоньше, и отдельные бугорки выступают не так резко. Расположенная под этими бугорчатостями-наслоениями, которая мы будем считать поверхностным слоем, пленка эта очень плотна и упруга и оказывает при расщипывании значительное сопротивление. С большим трудомъ удается расщипать ее на тоненькія, нѣжныя волокна, напоминающие волокна соединительной ткани, с которой она, по консистенціи, представляет большое сходство. Такое же микроскопическое строение имѣет и болѣе сложная форма бродила — кефирный грибокъ. Расщипывая его, мы находим и здесь кашцеобразный поверхностный слой, состоящий изъ бугорковъ желтовато-блкого цвета и покрывающей глубже-лежащую блестящую, блдую, упругую часть грибка, имѣющую здесь гораздо болѣе сложный видъ, чѣмъ в вышеописанной пластинкѣ. Въ грибокѣ описаннаго нами пленка образуетъ остовъ, стому грибка, а также соединяет между собой всѣ составляющие его болѣе мелкіе комочки.

Такимъ образомъ, грибки какъ въ простѣйшей своей формѣ — пластиночкѣ, такъ и въ болѣе сложной — комочкѣ состоятъ изъ двухъ, резко отличающихся одна отъ другой, частей, относительное расположение которыхъ у разныхъ формъ одно и то же. На поверхности расположенъ нѣжный рыхлый слой, состоящий изъ бугорковъ и наслоений, подъ которыми лежитъ плотная упругая основа. Связь между обоими этими слоями довольно слабая, причемъ можно удалять соскабливаніемъ верхній слой, не нарушая цѣлости блестящей поверхности основы.

Перейдемъ теперь къ изучению микроскопическаго строения грибка.

Небольшую частичку грибка мы размачивали въ стерилизованной водѣ и подвергали ее тщательному расщипыванію на покровномъ стеклышкѣ. Свѣдый препаратъ рассматривался въ капль стерилизованной же воды, для окраски высушивался на воздухѣ, фиксировался на пламени газовой горѣлки и кра-

силса слабымъ Лефлѣровскимъ растворомъ Мethylene-blau. Окраска эта давала у насъ лучшие результаты. На рисункѣ № I-й изображенъ такой окрашенный микроскопическій препаратъ расщипаннаго грибка. Какъ мы видимъ, по всему полю зрѣнія расположены или группами, или поодиночкѣ крупныя овальныя кѣтки, похожія на дрожжевыя (у насъ на рисункѣ 1). Кромѣ этихъ кѣтокъ во всемъ препаратѣ видны равномерно окрашенныя съ тупыми концами палочки. Чаще онѣ разнообразно извиты и перешелатаются другъ съ другомъ въ причудливаго очертанія фигуры; такое сгѣтеніе расположено у насъ въ центрѣ препарата (на рисункѣ эти палочки 2). Третьей формой, — какъ это видно на рисункѣ, мы имѣемъ кокки. Они крупнѣе величины и расположены или поодиночкѣ (на рисункѣ 3) и группами въ видѣ стафилококковъ, или по два выскѣтъ, какъ диплококки (на рисункѣ 4). Наконецъ, кромѣ указанныхъ формъ мы встрѣчаемъ еще коротенькія, толстыя палочки съ тупыми концами, разбѣянныя по всему препарату (на рисункѣ 5).

Итакъ, на препаратѣ мы могли различить 5 отдельныхъ формъ микроорганизмовъ: 1) кѣтки, похожія на дрожжевыя; 2) длинныя извитыя палочки; 3) кокки поодиночкѣ или кучками; 4) диплококки и 5) короткія палочки.

На неокрашенномъ, рассматриваемомъ въ капль воды, препаратѣ описаннаго нами на рисункѣ № I микроорганизма представляють следующие особенности. Кѣтки, похожія на дрожжевыя, имѣють двухконтурную оболочку и прозрачную съ нѣськими вакуолями внутри протоплазму. Длинныя извитыя палочки имѣють прозрачную, однородную протоплазму и обладаютъ самостоятельнымъ поступательнымъ - вращательнымъ движениемъ. Движеніе это постоянно выражено у менѣе извитыхъ отдѣльно лежащихъ палочекъ. Сильно извитыя, а также образующія сгѣтенія, палочки лишены движенія. Остальные микроорганизмы ничѣмъ по виду не отличаются отъ описанныхъ на окрашенномъ препаратѣ. Всѣ эти микроорганизмы присутствовали постоянно при всѣхъ многочисленныхъ повторныхъ изслѣдованіяхъ, и, поэтому, мы ихъ считали нормальнымъ бактеріальнымъ населеніемъ кефирнаго грибка. Какъ же расположены эти микроорганизмы въ бродилѣ? Для рѣшенія этой задачи мы приступили къ микроскопическому изученію обѣихъ составныхъ частей кефирнаго грибка.

Будучи столь различными по своему наружному виду,

части эти рёзко отличались и по своему микроскопическому строению.

На препаратъ изъ поверхностного слоя бугорковъ мы нашли крупныя овальныя, описанныя на рисункѣ № I-B, клѣтки, соединенныя въ цѣлыя зооглеи. Кромѣ нихъ въ полѣ зрѣнія видны были кокки въ видѣ стафилококковъ или диплококковъ и коротенькыя, неуклюжія палочки, изображенныя на томъ же рисункѣ. Основа же бродила представляла тѣсное сплетеніе разнообразно извитыхъ палочекъ и длинныхъ нитей. Отдѣльно лежащая не извитая палочка обладала быстрымъ поступательно-вращательнымъ движениемъ и походила на палочку, видѣнную нами на препаратѣ расщипаннаго грибка и изображенныя на рисункѣ I-мъ подъ цифрою 2. На границѣ этихъ двухъ слоевъ мы замѣчали присутствіе всёхъ микроорганизмовъ, при чемъ количество палочекъ у основанія бугорковъ поверхностнаго слоя постепенно уменьшалось. Для полного изученія топографіи грибка мы употребили, кромѣ расщипыванія, и срѣзы микрономомъ черезъ всю толщину его. Для этого размоченный въ водѣ грибокъ мы заключали въ целлюлозныя. Срѣзы клались въ слабый Лефдэровскій растворъ Methyleneblau, краска фиксировалась слабымъ растворомъ танина, промывалась водой и спиртомъ, и препаратъ окрашивался воднымъ растворомъ эозина. При этомъ методѣ окраски, микроорганизмы красятся въ синій цвѣтъ, свободныя же отъ микроорганизмовъ части препарата — въ розовый.

Мы опишемъ микроскопическую картину окрашеннаго по этому методу срѣза черезъ толщу грибка, изображеннаго у насъ на рисункѣ II-мъ. Контуры препарата представляютъ узкую полосу, окрашенную въ ярко-розовый цвѣтъ и мѣстами расширяющуюся въ неправильнаго очертанія участки. Центральная часть препарата также окрашена въ розовый цвѣтъ и занимаетъ большую часть его поперечника. Между этими двумя частями находится окрашенная въ голубой цвѣтъ широкая полоса, очертанія которой повторяютъ наружный контуръ препарата. Полоса эта образуетъ всё выступы и углубленія срѣза и не прерывается на всемъ его протяженіи. Въ общемъ, микроскопическая картина чрезвычайно напоминаетъ разрезъ какого-нибудь мѣшечатаго образования. Голубая полоса представляетъ собой какъ бы толщу стѣнки этого образования на рисункѣ 3); окрашенная же въ розовый цвѣтъ (на рисункѣ 1) полоса — его оболочку и центральную полость.

Итакъ, въ грибѣ микроорганизмы образуютъ обособленный слой, окруженный съ периферіи и въ центральной части слоями, лишенными микроорганизмовъ. Да и самый, содержащій микроорганизмы, слой окрашенъ неравномерно. На периферической части его окраска выражена гораздо интенсивнѣе; въ видѣ узкой полоски выражена она по всей периферіи голубой полосой, а мѣстами въ такой же интенсивный цвѣтъ окрашены и цѣлыя значительныя участки голубого слоя. Гораздо проще строеніе пластичнатыя формы кефирнаго бродила. Подъ микроскопомъ мы имѣемъ широкую полосу окрашенныхъ въ голубой цвѣтъ микроорганизмовъ, окаймленную съ обѣихъ поверхностей узкою полосой, окрашенною въ розовый цвѣтъ. На своей периферіи, на границѣ съ розовой полосой, голубая полоса окрашена въ синій цвѣтъ. Это окрашивание сильнѣе выражено на одной сторонѣ препарата, гдѣ цѣлыя участки, выдающіеся надъ голубой полосой, окрашены въ тусклой синій цвѣтъ.

Чтобы познакомиться съ строеніемъ описанныхъ нами, различныхъ по цвѣту частей грибка, мы изучали препараты при большемъ увеличеніи. Употребляя Асчг. 4 mm. фокуснаго разстоянія и 4-ой окуляръ компенсаторъ, мы убѣдились, что окрашенныя въ розовый цвѣтъ полосы и участки безструктурны и совершенно лишены микроорганизмовъ. Мѣста, окрашенныя въ голубой цвѣтъ, состоятъ изъ тѣснаго сплетенія длинныхъ, вѣтвистыхъ, тонкихъ палочекъ, образующихъ на границѣ съ безструктурнымъ слоемъ нѣжную широкопетлистую сѣть. Участки интенсивно-синей окраски представляютъ такую сѣть палочекъ, въ петляхъ которой заложены цѣлыя зооглеи крупныхъ овальныхъ клѣтокъ, похожихъ на дрожжевыя. Кромѣ этихъ клѣтокъ здѣсь мы видимъ цѣлыя кулки стафилококковъ, залогоющія въ петли сѣти палочекъ, и между клѣтками, расположенными зооглеями. Итакъ, мы видимъ, что микроорганизмы расположены въ кефирномъ грибѣ двумя ограниченными другъ отъ друга слоями, изъ которыхъ верхній состоитъ изъ зооглей клѣтокъ, похожихъ на дрожжевыя, и коковокъ и представляется не сплошнымъ, а состоящимъ изъ отдѣльныхъ бугорковъ, наслоенъ. Глубокій слой, образующій остовъ, строю грибка, состоитъ изъ тѣснаго сплетенія палочекъ и образуетъ на своей поверхности широкопетлистую основу, для расположеннаго на ней поверхностнаго слоя. Микроорганизмы покрыты на своей поверх-

ности безструктурным и слоистым; такое же безструктурное вещество находится и в центральных частях комочка.

Познакомившись с микроорганизмами кефирного грибка, а также с их расположением в нем, мы перешли к изучению этих микроорганизмов в отдельности. Метод которым мы ринули здесь воспользоваться, состоял в посеве грибка на твердые питательные среды, разливая их в чашечки Petri и прививаях с них развившихся колоний на различные питательные среды. Конечно, вылаживание колоний совершалось с помощью метода, известного в бактериологической технике под именем fischen. При выборе питательных сред мы остановились на наиболее употребляемых, мисептонных — бульон, желатин и агар, картофель и молоко. Последнее было взято нами вследствие того, что эта питательная среда служит естественно для кефирного брожения. Руководило нами при таком выборе питательных сред то соображение, что рост большинства микроорганизмов изучен только на этих питательных средах, что является особенно важным для определения новых насчитываемых микроорганизмов. Несколько позже к вышеупомянутым питательным средам мы прибавили еще молочную сыворотку. Для ее получения бляки молока свертывались слабой фосфорной кислотой, молоко кипятилось и фильтровалось. Прозрачный фильтрат осреждался раствором углекислого натрия до средней реакции, и сыворотка стерилизовалась в автоклаве при $t^{\circ} 120^{\circ}$. Получавшаяся красновато-желтая прозрачная жидкость представляла из себя хорошую питательную среду для микроорганизмов кефирного грибка. При посеве его мы употребляли несколько методов. Первый из них состоял в простом разбавлении обожженного на пламени газовой горелки сухого грибка в пробирке в стерилизованной воде. Мы предполагали, что, вследствие слабой связи микроорганизмов поверхностного слоя друг с другом, а также и с подлежащим глубоким слоем, они при одном таком разбавлении перейдут в жидкость. Через короткое время вода, в которой разбавлялись комочки, мутнела и приобретала кисловатый, жирно-ароматический запах. В каплях такой воды под микроскопом мы увидели, как мы и предполагали, множество микроорганизмов, расположенных в поверхностном слое кефирного грибка: овальные, сходные с дрожжевыми клетки и кокки. Но кроме них в каплях

воды было значительное количество и палочек, очевидно из поверхностной части основы, служащей связующим элементом ее с вышеупомянутыми микроорганизмами. Палочки эти обладали быстрым поступательно вращательным движением, некоторые же из них были соединены в тесное сплетение. Таким образом, при одном уже разбавлении мы можем получить в жидкости все микроорганизмы, находящиеся нами на препаратах кефирного грибка, но очевидно, что эти микроорганизмы перешли в нее с поверхностных частей брожения. Для того, чтобы сделать доступными току жидкости и центральный части грибка, мы растирали его в фарфоровой ступке в мелкий порошок. Порошок этот или высыпался в пробирку с стерилизованной водой или разбавлялся в пробирке с мелким стерилизованным песком; в последнем случае такой смешанный песок служил для посева в питательные среды. Капля воды, где был размешан раздробленный в песок комочек, содержала, как оказалось при микроскопическом наблюдении, те же составные части, что и при употреблении первоначального приема; разница замечалась только в значительном преобладании бактериальной формы при размешивании в воде раздробленного кефирного грибка. Палочки видны были под микроскопом в очень большом количестве, причем большая часть их была в виде зоолей, тесного сплетения различного извитых клубков. Таким образом, для посева на питательные среды мы употребляли каплю той воды, где был тщательно разбавлять цельный или раздробленный кефирный грибок, или же вместо воды брали смешанный с кефирным комочком песок, размельченный в песок же стерилизованным песком. Platten из желатин держались при обыкновенной комнатной t° , Platten же из агара ставились на первые сутки в термостат при 37° — 38° . При изучении Platten посевы поразило резкое несоответствие между количеством микроорганизмов, найденном в каплях воды, взятой для посева, и общим числом получавшихся на Platten колоний. Количество последних было очень незначительно, в особенности в тех случаях, когда мы употребляли для посева цельный кефирный комочек, так что нам не приходилось ни разу применять разведения употреблявшихся сред.

Приступим теперь к описанию получавшихся у нас на Platten колоний и дадим наше описание со встречавшихся в наибольшем количестве.

На желатинѣ эти колоніи не давали разжиженія и представлялись въ видѣ круглыхъ маленькихъ пучковъ молочно-бѣлаго цвѣта, съ рѣзкимъ голубымъ отблескомъ при проходящемъ свѣтѣ и вязкой консистенціи на ощупь платиновой проволокой. На микроскопическихъ препаратахъ изъ этихъ колоній мы имѣли крупныя кокки, расположенныя или въ видѣ диплококковъ или стафилококковъ. По микроскопическому виду кокки эти были вполне схожи съ изображенными у насъ на рисункѣ № I-й, 3 и 4. Изъ этихъ колоній, съ помощью такъ называемаго *fischen*, была сдѣлана прививка на желатину, агарь-агарь, картофель, бульонъ и молоко. На Platten изъ агара на другія сутки въ преобладающемъ числѣ были находимы колоніи, по наружному виду вполне схожія съ только что описанными на желатинѣ. Это были круглыя, слегка выступающія надъ поверхностью молочно-бѣлыя колоніи. При микроскопическомъ наблюдении съ большимъ увеличеніемъ въ этихъ колоніяхъ мы нашли такіе же кокки, въ видѣ стафилококковъ и диплококковъ, какъ и описанныя нами только что въ подобныхъ колоніяхъ на Platten изъ желатинѣ. Изъ этихъ колоній также были сдѣланы прививки съ помощью *fischen* на питательныя среды.

Второй видъ колоній, встрѣчавшіеся значительно рѣже на Platten, какъ изъ желатинѣ, такъ и изъ агара, имѣлъ видъ нѣжныхъ, сѣровато-бѣлыхъ пятнышекъ круглой формы. Подъ микроскопомъ, при небольшомъ увеличеніи, колоніи эти представляли красивое, напоминающее кружевную ткань, сістеміе нѣжныхъ длинныхъ и тонкихъ нитей, похожее на мицелій плѣсени. Микроскопическое наблюдение препарата изъ такихъ колоній дало большія, овальныя, рѣже круглыя кѣтки, схожія съ видными нами на препаратѣ расщипаннаго гриба и обозначеннаго на рисункѣ № I-й, 1. На многихъ изъ этихъ кѣтокъ наблюдалась на одномъ изъ концовъ — процессъ почкованія, подтверждавшій сходство этихъ кѣтокъ съ дрожжевыми кѣтками, какъ и было высказано нами выше.

Третій и послѣдній видъ встрѣчавшихся постоянно на Platten колоній присутствовалъ въ очень небольшомъ числѣ; въ особенности мало было число колоній въ тѣхъ случаяхъ, когда посѣвъ былъ сдѣланъ изъ воды, въ которой взбалтывался цѣлый комочекъ. При употребленіи же раздробленнаго въ песокъ кефирнаго гриба число колоній этого третьяго микроорганизма замѣтно увеличилось, но и здѣсь число ихъ

никогда не достигало числа уже описанныхъ выше двухъ видовъ колоній. Желатину эти колоніи разжижали въ видѣ круглыхъ съ рѣзко обрѣзанными краями блюдцеобразныхъ углубленій, прачемъ на поверхности такого разжиженнаго равномерно мутнаго участка желатинѣ плавала тоненькая сѣрая пленка. Подъ микроскопомъ, при небольшомъ увеличеніи, колоніи представлялись равномерно-мелкозернистыми, края же ихъ были усажены, въ видѣ вѣнчика, рядомъ нѣжныхъ тонкихъ волосковъ. Микроскопическій препаратъ изъ такой разжиженной желатинѣ показалъ присутствіе большого количества палочекъ съ равномерно прозрачной протоплазмой, обладающихъ быстрымъ поступательнымъ вращательнымъ движеніемъ, пленка же состояла изъ тѣснаго войлокоподобнаго сістеміе такихъ палочекъ, лишенныхъ уже движенія. Палочки эти представлялись совершенно похожими на видныя нами въ препаратѣ расщипаннаго гриба. На Platten изъ агара колоніи этихъ палочекъ имѣли видъ матовыхъ, желтовато-бѣлыхъ, сухихъ пленокъ съ неправильно-округленными краями, синюющими цѣлкомъ съ поверхности агарь-агара, не наруша ея цѣлости. На поверхности такой пленки черезъ нѣкоторое время появляются нѣжныя складочки, отчего пленка становится чрезвычайно похожей на древесный листокъ. Изъ этихъ колоній такъ же, какъ изъ описанныхъ передъ ними колоній дрожжевыхъ кѣтокъ, были сдѣланы *fischen* и прививка на всѣ, употребляемыя нами, питательныя среды.

Кромѣ этихъ трехъ видовъ колоній, встрѣчавшихся постоянно на Platten, почти въ половинѣ случаевъ нашего изслѣдованія, развивались еще колоніи плѣсневой формы, не разжижавшія желатинѣ, сѣбно-бѣлаго цвѣта.

На основаніи изученнаго подъ микроскопомъ образованія органовъ плодотворенія, мы причисляемъ ихъ къ плѣсени *Oidium lactis* и считаемъ ее не за составную часть гриба, а за бактериальное загрязненіе его, такъ какъ намъ ни на сѣвахъ гриба, ни на расщипанныхъ препаратахъ не приходилось констатировать присутствія этой плѣсневой формы.

Такимъ образомъ, на Platten мы выдѣляли колоніи почти всѣхъ микроорганизмовъ изученныхъ нами на препаратахъ расщипаннаго гриба. Мы получили въ чистыхъ культурахъ кокки, схожія съ дрожжевыми кѣтками и длинными палочками; только коротенькія пептуколія на чочки, обозначеныя у насъ на рисункѣ № I-й, 5, не встрѣчались на микроскопическихъ препаратахъ изъ вышеописанныхъ колоній. Общее же число

получавшихся колоній було значительно меньше количества микроорганизмов, постоянно находившихся в водѣ, употреблявшейся нами для посева.

Для выясненія этихъ результатовъ мы повторили вновь наши исследования, но вмѣсто сухого грибка брали уже вегетировавшій въ молокѣ въ продолженіе двухъ недѣль грибокъ. Такой комочекъ, тщательно выматый, или встряхивався нѣкоторое время въ стерилизованной водѣ до ея замѣтнаго помутнѣнія, или растирался въ пробиркѣ съ стерилизованнымъ пескомъ и уже такая смѣсь переносилась въ пробирку съ стерилизованной водой. Посѣвы изъ такой воды на Platten изъ желатини и агара дали слѣдующіе результаты.

Общее число колоній было значительно больше, чѣмъ при первыхъ исследованияхъ, такъ что для изученія отдѣльныхъ видовъ ихъ мы должны были употреблять 1-е, а иногда и 2-е разведеніе. Въ преобладающемъ числѣ были колоніи кокковъ и дрожжевыхъ кѣтокъ; количество же колоній палочекъ и здѣсь, въ сравненіи съ другими видами, было очень незначительно. Какъ видъ отдѣльныхъ колоній, такъ и микроскопическіе препараты изъ нихъ были вполне схожи съ таковыми же, описанными нами при первыхъ нашихъ исследованияхъ. На микроскопическомъ препаратѣ изъ колоній кокковъ между дипло- и стафилококками мы встрѣили большое количество коротенькихъ съ тупыми концами, соединенныхъ больше частью, но двѣ палочки, чрезвычайно схожихъ съ обозначенными на рисункѣ № I-й, 5. Такъ какъ микроскопическое наблюденіе показало намъ чистоту колоній, изъ которой былъ полученъ препаратъ, то мы должны принять обѣ эти формы, и кокки и коротенькія палочки, принадлежащими одному виду микроорганизма.

На основаніи этихъ исследованийъ, мы можемъ заключить, что въ сухомъ грибкѣ не всѣ микроорганизмы способны расти на нашихъ искусственныхъ питательныхъ средахъ, а что большинство изъ нихъ находится въ состояніи значительнаго ослабленія живдеятельности. Вегетируя въ молокѣ эти микроорганизмы или всѣ вновь приобретаютъ способность къ вегетаціи на нашихъ питательныхъ средахъ, или оставшіеся живыми кѣтки, размножаясь, значительно увеличиваются въ числѣ и замѣняютъ неживдеятельныя, отпадающія кѣтки. Что же касается несоответствія, между количествомъ палочекъ въ бродячѣ, гдѣ онѣ образуютъ большую часть его, всю основу, и числомъ получившихся ихъ колоній на Platten, наблюдававшегося при обоихъ нашихъ

исследованияхъ, то причина этого лежитъ въ слѣдующемъ. Если мы возьмемъ грибокъ и положимъ его въ пробирку съ крѣпкимъ растворомъ йодаго кали, то черезъ нѣкоторое время, замѣтимъ раствореніе комочка, на днѣ же пробирки получается прозрачный, желатинообразный, очень клейкій густой осадокъ. Подъ микроскопомъ такой осадокъ состоитъ изъ скопленія палочекъ, тѣсно лежащихъ рядомъ другъ съ другомъ. Палочки эти почти не красятся по обычнымъ методамъ, даже окраска ихъ почти не красится по способу Циля но окрашивается палочекъ. Очевидно, что мы имѣемъ здѣсь только оболочку кѣтокъ, протоплазма которыхъ разрушена йодомъ. Этотъ фактъ показываетъ, насколько крѣпка связь между отдѣльными палочками, и объясняетъ намъ, почему онѣ, составляя преобладающій элементъ бактеріальнаго населенія кефирнаго грибка, встрѣчались нами на Platten въ такомъ незначительномъ числѣ.

Выдѣливъ изъ грибка всѣ виды входящихъ въ его составъ микроорганизмовъ, мы перешли къ изученію въ отдѣльности каждаго изъ нихъ.

Первыми были изучены кокки, представлявшіе на Platten круглыя бѣлыя колоніи, не разжижавшія желатини. Была сдѣлана прививка на желатину уколомъ и по наклону, штрихомъ, на агаръ по наклону, на картофель, въ бульонъ и въ молоко. На желатинѣ и на агарѣ по наклону культура росла широкой полосой бѣлаго цвѣта съ неровными зазубренными краями. При прохожденіи свѣтъ цвѣтъ культур на желатинѣ былъ ясно голубоватый, сильнѣе выраженный по краямъ культуры. По уколу культура растетъ больше на поверхности желатини въ видѣ бѣлаго маслянистаго налета. Черезъ нѣкоторое время, болѣею частью уже къ концу первой недѣли, въ желатинѣ образуются пузырьки газа. Пузырьки эти часто сливаются другъ съ другомъ, иногда же раздѣляютъ всю толщину желатини на нѣсколько совершенно отдѣльныхъ одна отъ другой частей. При открытіи пробирки, культура издаетъ рѣзкій несприятный запахъ. На картофелѣ получается сѣроато-бѣлый налетъ. Въ бульонѣ культура даетъ муть, не доходящую до образованія пленки. Молоко свертывается къ концу первыхъ же сутокъ, причемъ жидкость раздѣляется на два слоя: нижній — свернувшійся казеинъ, и верхній — опалесцирующая сыворотка.

Микроскопическая картина препаратовъ изъ такихъ культуръ показана слѣдующее:

Культуры съ желатини, агарь-агара, картофеля и бульона

состояли из кокков и коротеньких палочек. Кокки эти большею частью были по два в вид диплококков, причем отдельные кокки резко отличались по своей величине; так, некоторые из них превосходили друг друга иногда в 2—3 раза. Но кроме величин, кокки отличались и по своей форме. Круглая форма их часто переходила в овальную или яйцевидную. Вместе с кокками в полъ арнии видны были короткия толстенкия палочки, длиной 1,5—2 μ и шириною 0,6—0,8 μ , соединенныя большею частью по двѣ. Въ молокъ на ряду съ описанными кокками и коротенькими палочками видны были длинныя, слегка изогнутыя, неподвижныя палочки. Такъ какъ свертываніе бѣлковъ молока мѣшало получению хорошихъ микроскопическихъ препаратовъ, мы употребили молочную сыворотку, изъ которой дѣлали висачія капли, причемъ держали ихъ первые сутки въ термостатѣ при 37°. На рисункѣ № III-й мы имѣли микроскопическую картину такой висачей капли черезъ сутки пребыванія ея въ термостатѣ при 37°. Препарат окрашенъ Лефдэровскимъ растворомъ Methylene blau. На препаратѣ мы видимъ разнообразной величины кокки, лежащія поодиночкѣ (III, 1) или по два въ видѣ диплококковъ (III, 2); короткия, большею частью, соединенныя по двѣ палочки (III, 3) и длинныя слегка изогнутыя палочки съ тупыми концами (III, 4). На свѣжѣмъ препаратѣ мы убѣждаемся, что какъ кокки, такъ и палочки лишены самостоятельнаго движенія. Такъ какъ въ висачія капли была привита чистая культура, то видѣнные нами кокки, диплококки, короткия и длинныя палочки нужно считать лишь различными формами одного и того же микроорганизма.

Какъ по своей морфологіи, такъ и по микроскопическому виду описанный нами микроорганизмъ представляется тождественнымъ съ молочнокислой бактеріей Нюрре. Изъ многихъ схожихъ признаковъ, какъ напр. образованіе пузырьковъ газа въ желатинной культурѣ, растущей по укладу, особенно важнымъ является описанное впервые Голубинымъ свойство кокковъ и палочекъ молочнокислой бактеріи — прорастать въ длинныя нити въ средахъ, содержащихъ молочный сахаръ. На основаніи полного сходства морфологіи выдѣленнаго нами микроорганизма съ имѣющимся у насъ лабораторными культурами *Bacilli acidi lactici* мы должны признать этотъ микроорганизмъ за *B. acidi lactici*.

Второй выдѣленный нами микроорганизмъ была дрожжевая

форма. На Platten она росла въ видѣ похожего на мицелій плѣсени сплетенія изъ изъинныхъ тонкихъ нитей. На желатинѣ и агарѣ по наклону культура росла въ видѣ узкой, значительно возвышающейся надъ поверхностью среды, полосы яркочѣрнаго цвѣта. На картофелѣ получался желтовато-бѣлый толстый ограниченный налетъ; въ бульонѣ культура образовывала на днѣ бѣлый порошковидный осадокъ. Молока культура не свертывала и по промешиванію показало круглыя или овальныя дрожжевыя клѣтки въ стадіи почкованія. По своему микроскопическому виду, а также и по величинѣ, 4—10 μ длины и 2—6 μ ширины клѣтки, эти вполне соответствовали клѣткамъ *Saccharomyces cerevisiae*.

Послѣдней изъ выдѣленныхъ нами микроорганизмовъ была бациллярная форма, разжижающая энергично желатину. На желатинѣ по укладу разжиженіе начиналось съ поверхности въ видѣ чашечки и не наблюдалось вдоль всего укола. Разжиженіе начиналось при комнатной t° на 3-й день и подвигалось довольно медленно. Черезъ нѣкоторое время разжиженіе занимало всю толщю верхней половины желатинѣ, на поверхности которой плавала сухая, сморщенная плотная пленка. Разжиженная желатина въ верхней своей части была прозрачна; на днѣ ея культура росла въ видѣ бѣлаго хлопчатого осадка. Въ очень старыхъ культурахъ разжиженная желатина принимала яркій зеленоватый оттѣнокъ.

На агарѣ по наклону ростъ культуры былъ очень обильный, во всю ширину слоя питательной среды. Мы имѣли матово-бѣлую кожистую плотную пленку, покрытую мелкими складочками и сипмашущую съ поверхности большими участками. Иногда же ростъ культуры былъ только вдоль прививного штриха, и тогда мы имѣли картину, чрезвычайно схожую съ члениками ленточной глисты.

На картофелѣ получался бѣлый, обильный, весь въ высокыхъ складкахъ налетъ, принимавшій иногда ярко-розовый оттѣнокъ.

Въ бульонѣ на другой же день получался на поверхности жидкости сухая, сморщенная плотная пленка, при встряхиваніи пробирки упавшая на дно цѣлкомъ; бульонъ во все время роста культуры оставался прозрачнымъ. Бульонная культура, такъ же какъ и старая культура на желатинѣ, издавала рѣзкій гнилостный запахъ.

Въ молокъ, гдѣ была привита культура, черезъ 3—4 дня

начиналось свертывание казеина. Количество свертков постепенно увеличивалось, и к концу недѣли жидкость раздѣлялась на два слоя: внизу — свернувшийся казеин и сверху — прозрачная, желтовато-бѣлая сыворотка. Недѣли через двѣ послѣ такого раздѣленія жидкости, количество свертков начинало постепенно уменьшаться, но полного их уничтоженія намъ ни разу не пришлось наблюдать.

Микроскопическое исследование культуры показало присутствие палочекъ съ равномерно прозрачной протоплазмой, обладающихъ энергичнымъ поступательнo-вращательнымъ движениемъ. Длина ихъ была 3—8 μ , ширина 0,8. Въ жидкихъ питательныхъ средахъ палочки вырастали въ длинныя до 20, 30 μ нити, обладающія болѣе медленнымъ спиральнымъ движениемъ. Препараты изъ болѣе старыхъ культуръ показывали присутствие внутри палочекъ блестящихъ, похожихъ на споры, образованийъ.

Для того, чтобы убѣдиться въ томъ, имѣемъ ли мы въ данномъ случаѣ споры, мы дѣлали вѣсичія капли изъ бульона и держали ихъ въ термостатѣ при 37°. Уже черезъ сутки въ большей части палочекъ видны были блестящія яйцевидныя образования. Черезъ 48 часовъ палочки были унизаны цѣлыми рядами такихъ образованийъ, имѣвшихъ видъ четокъ. Окрасивъ препараты изъ вѣсичей капли на споры, мы получили слѣдующую картину, изображенную у насъ на рисункѣ № V. Длинныя палочки представлялись состоящими изъ отдѣльныхъ кѣттокъ, окрашенныхъ въ голубой цвѣтъ, причемъ ясно были видны перегородки между кѣттками. Въ каждой кѣткѣ видно было ярко-красное образование — спора. Такимъ образомъ, каждая палочка образовала только одну спору.

Описанный нами микроорганизмъ, какъ по своему микроскопическому виду, такъ и по отношенію къ питательнымъ средамъ, вполне соответствовалъ описаніямъ обыкновенной сѣвнoй бактеріи. Чтобы проверить это сходство, мы выдѣлили изъ настоя сѣна *Bacillus subtilis* и перевели его на употребляемая нами питательныя среды. Сходство, какъ микроскопическаго вида, такъ и въ морфологій выдѣленнаго нами микроорганизма съ *Bacillus subtilis*, было настолько полное, что мы считаемъ его обыкновенной сѣвнoй бактеріей.

Итакъ, изъ кефирнаго грибка мы выдѣлили въ чистыхъ культурахъ постоянно присутствующіе въ немъ три вида микроорганизмовъ: молочнокислую бактерію, дрожжи и сѣвнoу бак-

терію. Последняя составляетъ остовъ грибка, которому онъ и обязанъ своей формой и величиной; первые же два вида тонкимъ слоемъ облегаютъ всю наружную поверхность грибка.

Если мы сравнимъ полученные нами результаты съ описаніями прежнихъ исследователей, помѣщенными въ литературную очеркъ, то увидимъ слѣдующее.

Начнемъ съ строения грибка. Большинство исследователей признавало составными частями бродила бактерію и дрожжевыя кѣтки. Последнія еще Керъ определялъ за *Saccharomyces cerevisiae*. Имѣренія наши совпадаютъ съ имѣреніями Керъ; но въ виду дрожжевыхъ кѣтокъ, намъ кажется, нужнымъ обозначенія вида дрожжевыхъ кѣтокъ, намъ кажется, нужнымъ дальнѣйшія исследования. Вотъ почему мы и воздерживаемся пока отъ точнаго определенія вида выдѣленныхъ нами дрожжевыхъ кѣтокъ.

Относительно бактеріальной формы, мнѣнія исследователей расходились.

Шабловскій считалъ ее возбудителемъ гніенія, сапрофитомъ, и его описаніе подходит къ признакамъ *B. subtilis*. Нужно замѣтить, что всѣ исследователи изучали лишь микроскопическую картину этого микроорганизма, и одинъ только Керъ производилъ кромѣ того имѣренія кѣтокъ. Онъ самъ пришелъ къ выводу, что выдѣнный имъ микроорганизмъ, чрезвычайно схожъ съ *B. subtilis*, и выдѣлъ отлчіе только въ образованіи двухъ споръ въ каждой вегетативной формѣ. Его описаніе и имѣренія вполне подходятъ къ нашимъ исследованіямъ *B. subtilis*; образованіе же двухъ споръ не можетъ считаться доказаннымъ, такъ какъ онъ производилъ свои исследования на неокрашенныхъ препаратахъ. Та же ошибка лежитъ въ основѣ выводовъ Подвысоцкаго и Сорокина, описавшихъ образование въ палочкахъ нѣсколькихъ споръ.

Изъ всѣхъ исследователей по этому вопросу только проф. Тихомировъ определялъ, на основаніи морфологій, кефирную бактерію какъ *B. subtilis*. Кромѣ него, указаніе на присутствіе *B. subtilis* въ кефирномъ грибѣ мы находимъ у Massé.

Относительно 3-го вида, молочнокислой бактеріи, Шабловскій, Керъ и Сорокинъ не упоминаютъ вовсе. Подвысоцкій и Крагальскій считали ихъ за споры кефирной бактеріи, но основывали свой взглядъ на наблюденія неокрашенныхъ микроскопическихъ препаратовъ; описанія же ихъ вполне соответствуютъ микроскопическому виду коковокъ молочнокислой бак-

терия. Наконец, Stern, Штанге и Massé прямо признают *B. acidi lactici* постоянной составной частью грибка.

Что же касается способа расположения этих трех составных частей в кефирном грибок, то мы присоединяемся в этом к мнѣнию Подвысоцкого, который говорит, что большая центральная часть кефирного грибка состоит из палочек, остальные же элементы находятся в периферических частях грибка.

Желаю провѣрить полученные нами результаты, мы исследовали еще одну порцию сухих кефирных грибов, приобретенных опять в аптекарскомъ магазинѣ Феррейна. По своему наружному виду эти кефирные грибки были совершенно тождественны съ исследованными уже нами, и в молокѣ они также вызвали кефирное брожение его, почему мы и сочли ихъ здоровыми грибами. Методы, употреблявшіеся при второмъ исследованіи, были тѣ же, что и при первомъ, также одинаковы были и питательныя среды.

Микроскопическая картина препарата изъ расщипаннаго грибка была вполне схожа съ изображеннымъ уже нами на рисункѣ №1-й. Здѣсь мы наблюдали клѣтки *Saccharomyces*, кокки, диплококи и коротенькія палочки *B. acidi lactici* и разнообразныя извитыя палочки *B. subtilis*. На препаратахъ срубъ въ черезъ толщу грибка можно было наблюдать, что и в этихъ грибахъ основа состояла изъ палочекъ, коки же и дрожжевыя клѣтки были расположены по периферіи его.

Убѣдившись въ полномъ сходствѣ микроскопической картины и бактериальнаго населенія кефирнаго грибка съ прежде исследованными нами порціями мы приступили къ посѣвамъ грибка въ чашечкахъ Petri. И здѣсь какъ общее число колоній, такъ и наружный ихъ видъ вполне соответствовали результатамъ уже описанныхъ нами выше исследованій. Преобладали колоніи молочнокислой бактерии, въ меньшемъ числѣ были колоніи дрожжевыхъ клѣтокъ, разжижающія же желатину колоніи палочекъ встрѣчались въ такомъ же небольшомъ числѣ, какъ и при первыхъ исследованіяхъ. Нѣкоторыя изъ такихъ разжижающихъ желатину колоній при микроскопическомъ наблюденіи нѣсколько отличались отъ описанныхъ выше колоній *B. subtilis*. Небольшія, не начавшія еще разжижать желатину колоніи вполне походили на колоніи *B. subtilis*, болѣе старыя колоніи отличались отъ нихъ желтовато-бурымъ слабымъ отгѣнкомъ и болѣе грубой зернистостью разжижен-

ной желатины, которая имѣла видъ отдѣльныхъ комковъ, кучекъ. Также значительно рѣже былъ выраженъ вѣничекъ волосковъ, окружавшій оба вида колоній.

Такимъ образомъ, мы видѣли, что слабое отличіе наблюдалось только при микроскопическомъ наблюденіи; макроскопически оба вида колоній нельзя было отличить одинъ отъ другого. Соответственно этимъ колоніямъ на Platten въ агарѣ мы наблюдали отличающіяся нѣсколько и макроскопически отъ колоній *B. subtilis* колоніи. Это были желтовато-бѣлыя, матовыя пленки, края которыхъ представлялись усеченными рядомъ нѣжныхъ волосковъ. При небольшомъ увеличеніи, колоніи казались состоящими изъ переплетающихся волоконъ и представляли нѣкоторое сходство съ колоніями *Bacillus anthracis*; на болѣе старыхъ колоніяхъ наблюдалось образование мелкихъ складочекъ, морщинъ, и тогда они макроскопически представляли большое сходство съ колоніями *B. subtilis*. На микроскопическомъ препаратѣ изъ такихъ колоній съ желатины и агарѣ наблюдались палочки, нѣсколько отличныя отъ описанныхъ нами палочекъ *B. subtilis*. Онѣ были болѣе неуклюжи, протоплазма у большинства ихъ была зерниста, движеніе ихъ было болѣе медленна, чѣмъ движеніе *B. subtilis*, хотя характеръ движенія оставался постоянно тотъ же. Величиной палочки эти тоже рѣзко отличались отъ клѣтокъ *subtilis*; такъ, длина ихъ колебалась, какъ и у *subtilis*, 3—9 μ , шарика же была постоянно 1,5 μ . Палочки эти лежали чаще соединенными по двѣ или образовывали тѣсное войлокоподобное сплетеніе. На желатинѣ по уколу разжиженіе шло вдоль всего укола чулкомъ, культура въ видѣ бѣлаго хлопчатого осадка лежала въ нижней части разжиженной желатины, на поверхности которой образовывалась сѣровато-бѣлая, маслянистаго вида рыхлая пленка, плотно пристававшая къ стѣнкамъ пробирки. При сотрѣсаніи пробирки центральная часть пленки отрывалась отъ краевъ и падала на дно. Культура издавала рѣзкій, свойственный *B. subtilis*, гнилоостный запахъ. На агарѣ по наклону культура росла въ видѣ желтовато-бѣлаго налета съ желоволосястимъ, цветнистымъ краемъ. На старыхъ культурахъ на поверхности налета образовывались рѣдкія складочки, морщины. На картофельѣ культура росла срубъ ограниченнымъ пагометомъ; въ бульонѣ образовывалась на поверхности такая же рыхлая, сѣрая пленка, какъ и на желатинѣ, при чемъ середина пленки при встряхиваніи пробирки отрывалась отъ краевъ и падала

на дно. Бульонъ, дѣлавшійся на другой же день мутнымъ, къ концу первой же недѣли свѣтлѣлъ, культура же издавала рѣзкій гнилостный запахъ. Пленки, образовавшіяся на поверхности бульона и разжиженной желатинѣ, часто не представляли только что описанныхъ нами особенностей, позволявшихъ ихъ отличать макроскопически отъ таковыхъ же *V. subtilis*. Напротивъ, приблизительно въ половинѣ случаевъ эти пленки представляли полное сходство съ пленками, образующимися при вегетации *V. subtilis*, и тогда постановки макроскопически дифференціальную диагностику между этими двумя видами микроорганизмовъ не представлялось никакой возможности.

Въ молокѣ вегетация этого микроорганизма была такая же, какъ и вегетация *V. subtilis*. Черезъ нѣсколько дней въ жидкости появлялись небольшіе свертки казеина. Количество свертковъ постепенно увеличивалось, и къ концу первой же недѣли жидкость раздѣлялась на два слоя: нижній — свернувшійся казеинъ и верхній — окрашенная въ красновато-желтый цвѣтъ сыворотка. Въ старыхъ молочныхъ культурахъ мы наблюдали также какъ и у *V. subtilis* постепенное уменьшеніе свертковъ казеина. Микроскопическое изслѣдованіе частыхъ культуръ показало тѣ же толстыя, медленно движущіяся палочки, какія описаны въ колоніяхъ съ Platten.

Нѣкоторую особенность представляла микроскопическая картина культуръ съ картофеля. Здѣсь черезъ сутки, послѣ стоянія въ термостатѣ, мы наблюдали массу вивольціонныхъ формъ; палочки были рѣзко зернисты, контуры ихъ были неровны, большая часть была искривлена на подобіе серпа или подкова, на концахъ замѣчались часто шарообразныя утолщенія. Палочки эти плохо красились даже крѣпкими щелочными растворами Метхленъ бланъ. Въ жидкихъ питательныхъ средахъ палочки выростали въ длинныя нити, скоро распадавшіяся на отдѣльныя кѣтки. Препараты, приготовленные изъ болѣе старыхъ культуръ, показывали присутствіе въ большинствѣ палочекъ овальныхъ, блестящихъ, похожихъ на споры, образований. Образованія эти наблюдались у культуръ, стоявшихъ 3—4 дня въ термостатѣ при 37°; для выясненія вопроса, имѣемъ ли мы здѣсь процессъ спорообразования, мы подвергли микроскопическіе препараты двойной окраскѣ на споры. На рисункѣ № VI-в представлена у насъ получавшаяся при такой окраскѣ микроскопическая картина. Здѣсь палочки,

въ противоположность *V. subtilis*, лежатъ больше или поодионокъ, или соединены по нѣскольکو имѣствъ, и мы почти не наблюдаемъ образованія такихъ длинныхъ нитей, какъ это мы видѣли у *V. subtilis* (на рисункѣ № V-в). Отдѣльныя кѣтки окрашены въ голубой цвѣтъ, при чемъ ясно выступаютъ перегородки между ними; въ каждой кѣткѣ лежитъ овальная, окрашенная въ яркій красный цвѣтъ, спора.

Самый процессъ спорообразования наступаетъ нѣсколько поздне, чѣмъ у *V. subtilis*; даже въ старыхъ 2—3-недельныхъ культурахъ имѣствъ съ кучками отдѣльныхъ споръ видны были въ довольно значительномъ количествѣ и вегетативныя формы. Чистая споровая культура ничѣмъ не отличалась отъ таковой же *V. subtilis*.

Такимъ образомъ, изъ второй порціи намъ пришлось выдѣлать микроорганизмъ, какъ по наружному виду, такъ и по своей морфологіи очень близку подходящій къ *V. subtilis*, но обладающій имѣствъ съ тѣмъ нѣкоторыми, какъ мы видимъ, отличительными признаками. Оставшаяся безъ всякой реакціи прививка двумъ кроликамъ, одному въ иппуру вену, другому въ брюшную полость 2 сс. бульонной культуры, позволяетъ намъ считать этого микроорганизма за сапрофита. На Platten, получавшихся при посѣвахъ 2-й порціи грибка, сапрофитъ этотъ встрѣчался рѣдко, но болѣе какъ на одной трети всѣхъ Platten, причемъ колоніи его найдены были имѣствъ съ колоніями *V. subtilis*, но въ значительно меньшемъ числѣ. Такъ какъ микроорганизмъ этотъ вполне отсутствовалъ въ первой порціи изслѣдованныхъ нами кефирныхъ грибовъ, во второй же порціи встрѣчался относительно рѣдко, то мы не сочли себя въ правѣ признавать его за постоянную составную часть бактериальнаго населенія кефирнаго грибка и приступили къ изслѣдованію еще одной новой порціи кефирнаго бродила, полученной нами, такъ же какъ и двѣ первыя, изъ антексарскаго магазина Феррейна.

Микроскопическая картина срубъ грибка была та же, что и въ первыхъ двухъ порціяхъ. Основа, большая часть, состояла изъ бациллярной формы; на периферіи ея лежали расположенные въ петли основы кокки *V. acidilactici* и кѣтки *Saccharomyces*. Изучая препаратъ расплывающаго грибка въ калѣхъ стерилизованной воды, мы наблюдали имѣствъ съ палочками *V. subtilis* толстыя зернистыя палочки, похожія на выдѣленную нами второю бациллярную форму, причемъ въ нѣкото-

рых зернах эта палочка являлась въ преобладающемъ количествѣ. Результаты посѣвовъ на твердыя питательныя среды вполне соответствовали видѣнной нами микроскопической картинѣ. Колоніи 2-й описанной нами бациллярной формы встрѣчались гораздо чаще, чѣмъ при первыхъ двухъ изслѣдованіяхъ; иногда при посѣвахъ мы получали только одну колонію 2-го микроорганизма.

Такимъ образомъ, приходится считать эту 2-ую бактериальную форму за одну изъ частей бактериальнаго населения кефирнаго грибка, не только присутствующую въ немъ вмѣстѣ съ *B. subtilis*, но и могущую образовывать основу грибка. Этотъ микроорганизмъ, столь схожій съ *B. subtilis*, по всемъ вѣроятіямъ, нужно считать за этотъ послѣдній, отличие же нѣкоторыхъ свойствъ его отъ *B. subtilis* могло получиться у него вслѣдствіе какихъ-либо особенностей послѣдовательной вегетации при кефирномъ броженіи въ молокѣ. Отсутствие единства въ микроскопическомъ видѣ бациллярной формы, образующей основу грибка, объясняетъ намъ разногласія въ описаніи ея, встрѣаемыя у различныхъ изслѣдователей. Эти разногласія тѣмъ болѣе рѣзки, что изслѣдователи въ описаніи своемъ руководствовались однимъ, и то болѣею частью крайне несовершеннымъ, микроскопическимъ наблюдениемъ.

Посмотримъ, какъ описываютъ бациллярную форму различные авторы.

Полное описаніе микроскопической картины и указанія на величину клѣтокъ встрѣчаемъ мы у одного Керна, и описаніе его вполне схоже съ приведенными въ нашихъ изслѣдованіяхъ признаками клѣтокъ *B. subtilis*.

Только проф. Тихомировъ опредѣляетъ, бациллярную форму, какъ *B. subtilis*. У Massé вмѣстѣ съ указаніемъ на постоянное присутствіе въ грибкѣ *B. subtilis*, приведено описаніе, заимствованное у Керна, *B. dispersa Caucasica*. Нѣсколько отличимъ является описаніе бациллярной формы у Крапгальса. Видѣнныя имъ разнообразной формы зернистыя, съ вздутыми концами палочки гораздо болѣе походятъ на вторую описанную нами разновидность. Изъ описанія прочихъ изслѣдователей нельзя вывести точнаго заключенія о томъ, къ какому изъ выдѣленныхъ нами видовъ палочекъ, составляющихъ основу кефирнаго грибка, приближается встрѣчающаяся и изучавшаяся нами бациллярная форма.

Познакомившись съ строеніемъ и бактериальнымъ населе-

ніемъ кефирнаго грибка, мы перешли къ изученію микроорганизмовъ, присутствующихъ въ производимомъ ими напитокѣ изъ коровьяго молока — кефирѣ.

Кефиръ, изслѣдованный нами, былъ взятъ изъ Петербургской гигиенической лабораторіи и по своимъ физическимъ свойствамъ вполне соответствовалъ предъизвлекаемъ къ нему требованіямъ.

Это была жидкость бѣлаго цвѣта, похожая при взбалтываніи на эмульсію и послѣ нѣкотораго стоянія раздѣлявшаяся на два слоя: верхній — гнѣзный, рыхлый свертокъ казеина и нижній — полупрозрачная сыворотка. При открываніи бутылки выдѣлялся газъ, и налитая въ стаканъ жидкость пѣнилась на подобіе пива. Запахъ у жидкости пріятный, кисло-ароматичный; вкусъ острый, щиплющій; консистенція — жидкой сметанѣ.

Изслѣдованію были подвергнуты 10 бутылокъ средняго кефира и по 5 слабого и крѣпкаго. Изъ каждой бутылки сдѣлано было по нѣсколько микроскопическихъ препаратовъ и разлики на чашечки Petri. Для этого бутылка тщательно встряхивалась и открывалась со всеми бактериологическими предосторожностями. На петьелку изъ платиновой проволоки бралась капля жидкости и тщательно разбалтывалась въ разжиженныхъ питательныхъ средахъ. Для микроскопическихъ препаратовъ капля жидкости размазывалась возможно тонкимъ слоемъ по покровному стеклышку, сушилась на воздухѣ и клалась на сутки въ смѣсь спирта съ эфиромъ. Черезъ сутки препаратъ обрабатывался хлороформомъ и окрашивался Лефлеровскимъ растворомъ Methylen blau. Микроорганизмы окрашивались въ густой синий цвѣтъ, прочія же части препарата, фонъ его — въ голубой цвѣтъ.

Platten на агарѣ ставились на сутки въ термостатъ при 37°; на желатинѣ же оставались при обыкновенной комнатной т°. Общее количество получившихся на Platten колоній было очень велико, такъ что для микроскопическаго изученія отдельныхъ видовъ колоній употреблялись разлики 2-го разведенія.

Начнемъ съ описанія микроскопической картины капли средняго кефира. На рисунокѣ № IV-й мы имѣемъ такую микроскопическую картину препарата, окрашеннаго Лефлеровскимъ растворомъ Methylen blau. По всему полю зрѣнія видны дрожжевыя клѣтки, большинство которыхъ находится въ стадіи

почкования. Кроме них мы видим палочки и кокки, последние в вид диплококков. Палочек было несколько видов: во-первых, палочки, схожие с изображенными на рисунке № III, палочками молочнокислой бактерии. Одни из них коротки, соединены большею частью по две, другие же длинны, тонки, слегка изогнуты. Следующия палочки отличались от только что описанной молочнокислой бактерии своей толщиной и походили на палочки *V. subtilis*. Кроме этих видов микроорганизмов, по всему полю арбыни были разсыпаны тоненькия, ильямныя, короткия палочки, не видныя нами на препаратах кефирнаго гриба. На неокрашенных свѣжих препаратах можно было замѣтить, что самостоятельным движением обладали только схожія съ *V. subtilis* палочки и поны, не найденныя при изученіи кефирнаго гриба, бациллярный вид.

Изъ этого описанія видно, что, на основаніи одной микроскопической картины, невозможно составить ясное представленіе о бактеріальномъ населеніи кефира. Можно только высказать предположеніе о сходствѣ наблюдаемыхъ микроорганизмовъ съ известными изученными уже нами видами, — и только.

На Platten изъ агара и желатинныя мы встрѣтили тѣ же микроорганизмы, какіе были уже описаны нами при изслѣдованіи кефирнаго гриба. Въ большомъ числѣ были колоніи молочнокислой бактерии и дрожжей, колоніи же бациллярной формы встрѣчались въ очень незначительномъ числѣ: двѣ или три на каждой Platten, въ 7 бутылкахъ найденъ былъ *V. subtilis* и въ 3 остальныхъ вмѣстѣ съ *V. subtilis* и разовидность его.

Кромѣ этихъ микроорганизмовъ на всѣхъ Platten находилась въ большомъ числѣ круглыя, разжижающія желатину, колоніи растущія на агаре въ видѣ бѣлыхъ, съ яснымъ зеленымъ оттѣнкомъ, круглыхъ колоній. Черезъ нѣсколько дней разжиженная желатина принимала ясный зеленый оттѣнокъ, и при микроскопическомъ наблюденіи видны ея были тоненькия, соединенная по две, быстро движущіяся палочки, похожія на видныя нами на препаратѣ кефира. Этотъ микроорганизмъ по совокупности своихъ свойствъ былъ определенъ, какъ *Bacillus fluorescens putidus liquefaciens*, и считался нами бактеріальнымъ загрязненіемъ кефира, такъ какъ онъ ни разу не былъ найденъ въ кефирномъ брождѣ, между тѣмъ какъ постоянно присутствовалъ въ большомъ количествѣ въ воздухѣ и въ водѣ водопровода. Кромѣ *B. fluorescens*

putidus liquefaciens, какъ бактеріальное загрязненіе, въ 5 бутылкахъ найденъ въ большомъ количествѣ *Oidium lactis*.

Перейдемъ теперь къ результатамъ изслѣдованія слабого и крѣпкого кефира.

Какъ микроскопическое наблюденіе, такъ и разливки показывали присутствіе тѣхъ же микроорганизмовъ, какіе найдены были въ среднемъ кефирѣ. Различіе состояло только въ количествѣ числовыхъ отношеній между различными видами. Такъ, на микроскопическомъ препаратѣ слабого кефира, дрожжевыя клѣтки почти отсутствуютъ, тогда какъ, разматывая каплю крѣпкого кефира, мы видимъ въ полѣ арбыни зоогенныя дрожжевыя клѣтки. То же отношеніе наблюдалось и на Platten. На чашечкахъ съ посѣвомъ слабого кефира, колоніи дрожжевыхъ клѣтокъ встрѣчались рѣдко, между тѣмъ какъ при изслѣдованіи Platten изъ крѣпкого кефира, эти колоніи были въ такомъ же большомъ числѣ, какъ и колоніи *V. acidii lactici*. Колоніи бациллярной формы встрѣчались въ такомъ же небольшомъ числѣ, какъ и въ среднемъ кефирѣ, при чемъ въ 3-хъ бутылкахъ найденъ былъ одинъ *V. subtilis*, въ 5-ти — оба вида бациллярной формы и въ 2-хъ — 2-й видъ. Въ 4-хъ бутылкахъ присутствовалъ въ большомъ количествѣ *Oidium lactis*, и на всѣхъ Platten найдено много колоній *B. fluorescens putidus liquefaciens*.

На основаніи нашихъ изслѣдованій, мы можемъ сдѣлать следующие выводы относительно бактеріальнаго населенія кефира.

Въ кефирѣ постоянно присутствуютъ тѣ же микроорганизмы, что и въ кефирномъ грибѣ, причѣмъ молочнокислая бактерія и дрожжевыя клѣтки находятся въ преобладающемъ количествѣ; бациллярная же форма встрѣчается значительно рѣже. Последнее обстоятельство можетъ быть объяснено той крѣпкой связью, какая существуетъ между отдѣльными ея клѣтками. Кромѣ этихъ микроорганизмовъ въ изслѣдованномъ нами кефирѣ присутствуютъ въ большомъ числѣ микроорганизмы, которые мы не считали постояннымъ населеніемъ кефира, а его бактеріальнымъ загрязненіемъ, зависящимъ отъ особыхъ условий, требуемыхъ бактеріологической техникой при приготовленіи наитка.

Если мы вернемся къ описаніямъ прежнихъ изслѣдователей, то увидимъ, что Шабловскій принялъ молочнокислую бактерію за мертвыя палочки кефирной бактерии, Сорokinъ же описалъ за самостоятельное движеніе описанной имъ молочно-

кислой бактерии молекулярное или Броуновское движение; Подвысоцкий разницу в бактериальном составе кефира различной крепости видел в увеличении общего числа бактерий, вместе с увеличением времени брожения, тогда как по нашим исследованиям происходит резкое увеличение только числа дрожжевых клеток.

Заканчивая изложение отъѣла изучения бактериального населения кефирного грибка мы можем суммировать все добытые нами результаты слѣдующимъ образомъ: кефирный грибокъ есть смесь трехъ видовъ микроорганизмовъ: *Saccharomyces*, *B. acidi lactici* и *B. subtilis*. Конечно, уже а priori можно было предполагать, что постоянно характеристики бактериального населения кефирного грибка, едва ли возможно, такъ какъ самъ кефирный грибокъ, при употреблении его в практикѣ какъ кефирного бродила, непременно долженъ подвергаться хотя случайному, но постоянному бактериальному загрязненію. Бактериальное же загрязненіе самого кефира, какъ напитка, должно быть еще больше. Это предположеніе подтвердилось результатами нашихъ исследованийъ.

Присутствие въ кефирѣ-напиткѣ такого микроорганизма, какъ *B. florescens putidus liquefaciens*, какъ это показало наше исследование, требуетъ обращенія особаго вниманія на способы приготовления кефира и заставляетъ прибѣгать при приготовленіи его къ посѣву в стерилизованное молоко чистыхъ культуръ тѣхъ микроорганизмовъ, которые составляютъ постоянное бактериальное населеніе кефирного грибка. Однако, чтобы рѣшить этотъ вопросъ, крайне важный, какъ в теоретическомъ научно-мъ отношеніи, такъ и в особенности в практическомъ, необходимо было изучить значеніе и натуру химическихъ процессовъ развивающихся при вегетаціи въ молокѣ микроорганизмовъ кефирного грибка.

Химическое исследование.

Какъ уже было сказано, кефирный грибокъ состоитъ изъ трехъ видовъ микроорганизмовъ, но необходимъ ли этотъ симбиозъ для вызванія кефирного броженія молока, и какаѣ роль выпадаетъ на долю каждого изъ нихъ в отдѣльности — вотъ вопросъ, для рѣшенія котораго мы приступили къ химическому исследованію кефирного броженія. Для этого прежде всего мы научили, какіе химическіе процессы происходятъ въ молокѣ при вегетаціи в немъ микроорганизмовъ, выдѣленныхъ изъ кефирного грибка; причемъ употреблявшійся нами методъ состоялъ в посѣвахъ в стерилизованное молоко чистыхъ культуръ этихъ микроорганизмовъ. На первая сутки молоко ставилось в термостатъ при 37°, остальное же время держалось при обыкновенной комнатной t°. В три кобы съ стерилизованнымъ молокомъ были сдѣланы посѣвы порознь *B. acidi lactici*, *B. subtilis* и *Saccharomyces*, и, по прошествіи мѣсяца, молоко было подвергнуто химическому исследованію.

Начнемъ съ описанія кобы съ молокомъ, гдѣ вегетировалъ *B. subtilis*. Жидкость красновато-желтаго цвѣта теплаго молока опалесцируетъ и по консистенціи сходна съ сывороткой; на поверхности ея плаваютъ обволокнутые жиромъ свертки казеина, по виду похожіе на комки масла. Запахъ жидкости непріятный гнилостный, отдѣленія газа не наблюдалось, реакція на лакмусъ слабосидлая. Жидкость была профильтрована и фильтратъ исследованъ на сахаръ, молочную кислоту и пептоны. В поляризационномъ приборѣ и при титрованіи найдено уменьшеніе сахара до половины его первоначальнаго количества въ молокѣ. Реакція на молочную кислоту показала незначительное присутствіе ея в фильтратѣ, пептонація же бѣловтъ; судя по получавшейся Бюретовой реакціи, была выражена значительно.

Слѣдующею была исследована колба съ молокомъ, въ которое былъ сдѣланъ посѣвъ *V. acid lactici*. Жидкость была не измѣнена въ цвѣтъ и раздѣлялась на два слоя: верхній — опалесцирующая сыворотка и нижній — вязкие рыхлые свертки казеина. Запахъ жидкости кислотный, подходящий къ запаху сметаны, реакція на лакмусъ рѣзко кислая, выдѣленія газа не замѣчалось. Исследование фильтрата на сахаръ показало рѣзкое уменьшеніе его первоначальнаго количества. Реакція на молочную кислоту и пептоны были выражены въ сильной степени.

Послѣднимъ было исследовано молоко съ посѣвомъ *Saccharomyces*. При наружномъ осмотрѣ молоко не представляло никакихъ видимыхъ измѣненій. Не было замѣтно ни особаго запаха, ни выдѣленія газа; реакція на лакмусъ была нейтральная; исследование на молочную кислоту и пептоны дали отрицательные результаты; количество сахара оставалось неизмѣненнымъ.

На основаніи этихъ исследованийъ мы можемъ заключить, что ни одинъ изъ выдѣленныхъ нами изъ кефирнаго бродила микроорганизмовъ въ отдѣльности не можетъ вызвать, вегетируя въ молоко, такого химическаго процесса, который, хотя сколько-нибудь, приближался бы къ кефирному броженію молока. *V. subtilis*, какъ это раньше еще было извѣстно по изслѣваніямъ Бухнера, свертываетъ казеинъ и пептонизируетъ его, образуетъ рядъ летучихъ жирныхъ кислотъ и, главнымъ образомъ, бутириную кислоту, расщепляетъ молочный сахаръ и переводитъ часть его въ молочную кислоту. При дальнѣйшей вегетаціи своей *V. subtilis* производитъ, какъ и многіе другіе сапротиты, въ какиъ онъ принадлежитъ, гніеніе бѣлковыхъ тѣлъ. Эти результаты опровергаютъ мнѣніе Сорокина о зависимости кефирнаго броженія отъ вегетаціи въ молоко кефирной бактеріи, оказавшейся по нашимъ изслѣдованіямъ *V. subtilis*. Молочнокислая бактерія, вегетируя въ молоко, въ нашемъ случаѣ свертывала казеинъ, причѣмъ часть его пептонизировалась, и расщепляла молочный сахаръ съ значительнымъ образованіемъ молочной кислоты. Словомъ, мы имѣли здѣсь молочнокислое броженіе, происходящее при всякомъ самопроизвольномъ скисаніи молока. Изъ этого мы видимъ, что Levy ошибочно приписывалъ одному молочнокислому броженію тѣ процессы, какіе сопровождаютъ кефирное броженіе молока. Такую же ошибку сдѣлалъ и Струве, объяснявшій возникно-

веніе кефирнаго броженія вегетаціей однихъ дрожжевыхъ клѣтокъ. Изъ нашихъ изслѣдованій видно, что *Saccharomyces*, вегетируя при нейтральной реакціи молока, не производитъ никакихъ химическихъ процессовъ. На это еще разѣе указывалъ Штанге, считавшій кислоту реакцію жидкости необходимымъ для химическаго дѣйствія дрожжевыхъ клѣтокъ; въ этомъ съ нимъ былъ согласенъ извѣстный знатокъ по вопросу о кефирѣ Дмитріевъ. Выяснивъ себѣ, что кефирное броженіе не можетъ быть вызвано вегетаціей въ молоко *V. subtilis*, *V. acid lactici* и *Saccharomyces* порознь, мы приступили къ посѣвамъ ихъ въ молоко по нѣскольکو вѣстѣ. Въ одну кобу съ стерилизованнымъ молокомъ былъ сдѣланъ посѣвъ *V. acid lactici* и *Saccharomyces*, въ другую, кромѣ этихъ микроорганизмовъ, была привита культура *V. subtilis*. И время продолженія опыта, и окружающія условія были тѣ же, что и при первыхъ изслѣдованіяхъ.

Начнемъ съ описанія молока, въ которомъ вегетировали два микроорганизма: *V. acid lactici* и *Saccharomyces*. Жидкость бѣлаго цвѣта раздѣляется на два слоя: верхній — рыхлые свертки казеина, нижній — почти прозрачная сыворотка; послѣ избалтыванія жидкость получаетъ видъ однородной, консистенціи жидкой сметаны, эмульсии. При открываніи колбы происходитъ значительное выдѣленіе не имѣющаго запаха и цвѣта газа. Для качественного его опредѣленія мы пропустили выдѣляющийся изъ колбы газъ по гуттаперчевой трубкѣ черезъ двухгорлую склянку съ баритовой водой. Получившееся при этомъ сильное помутнѣніе жидкости показывало присутствіе большого количества углекислоты. Запахъ жидкости былъ пріятный кислотато-ароматическій, вкусъ кислотный, циплющій, напоминающій вкусъ сметаны. Реакція жидкости рѣзко кислая; налитая въ стаканъ она пѣнится на подобіе пива. Въ полързаціонномъ аппаратѣ и титрованіемъ открываются слѣды молочнаго сахара; фильтратъ даетъ рѣзкую биуретовую реакцію и реакцію на молочную кислоту. Въ перегонѣ жидкости на пламени газовой горѣлки мы опредѣлили йодоформной реакціей присутствіе значительнаго количества спирта.

Теперь опишемъ вторую кобу съ молокомъ, въ которомъ вегетировали три микроорганизма: *V. subtilis*, *V. acid lactici* и *Saccharomyces*. Для того, чтобы избѣжать повторенія, скажемъ, что употреблявшіеся при этомъ методы были тѣ же, что и при изслѣдованіи предыдущей порціи молока. По на-

ружному виду жидкость не представляла никаких почти отличий от описанной выше жидкости. В ней также наблюдалось разделение на два слоя: верхний — рыхлые свертки казеина, нижний — полупрозрачная сыворотка; при взбалтывании оба слоя сгибывались в однородную эмульсию. Цвет жидкости был слегка красновато-желтый, напоминающий цвет топленого молока. При открывании колбы — значительное выделение углекислоты и приятный, ароматической кислотатый запах; вкус жидкости был острый, циплюющий, похожий на вкус сметаны. Жидкость также гбиалась, и на язык в ней попадались маленькие свертки казеина. Реакция показала почти полное исчезновение сахара и присутствие большого количества пептонов, молочной кислоты и спирта.

Таким образом, несмотря на различие в состав вегетировавших в обоих порциях молока микроорганизмов, химические продукты их дбательности представляли вполне тождественными. В обоих жидкостях мы нашли рьское уменьшение сахара и образование молочной кислоты, спирта и углекислоты вмьсть съ свертыванием казеина молока. Вегетация *V. subtilis* не оказала никакого видимого дбствия на молоко, находясь вмьсть съ двумя другими микроорганизмами. Найденные нами химические продукты вегетации микроорганизмов образуются постоянно, как мы это видели в литературном очеркь, при кефирном брожении молока. Наружный вид молока, гдь вегетировали микроорганизмы, представляет полное сходство съ помьщенными у нас описаниями кефира у прежних исследователей. Основывалась на сходствь физических признаков кефира съ исследованными нами двумя порциями молока, гдь в одной вегетировали два микроорганизма: *V. acidilactici* и *Saccharomyces*, въ другой кромь этих микроорганизмов вегетировал еще *V. subtilis*, мы можем заключать, что намь удалось вызвать въ молоко брожение, сходное съ кефирнымь. Обь жидкости, приди въ соприкосновение съ свьжими порциями молока, вызывали въ немь то же брожение, при чемь исследования показали образование тьх же химических продуктов. Разбавляя полученную нами бродящую жидкость двумя объемами свьжого стерилизованного молока, мы получали уже черезь сутки значительно выраженное брожение, причеь какь сила, такь и скорость брожения зависли вполне оть вышнихь условий, какь это наблюдается и при приготовления кефира.

При такой преемственной передачь брожения намь удавалось въ продолжение 8 мьсяцевь получать напитки, ни по физическимь признакамь, ни по химическимь реакциямь не отличающься ни въ чемь оть обыкновеннаго продажнаго кефира. Оба напитка — одинь, гдь брожение было вызвано двумя микроорганизмами: *V. acidilactici* и *Saccharomyces*, и другой, гдь кромь нихь вегетировал еще *V. subtilis* — не представляли никакого отличия другь оть друга. Но однихь физических признаков намь казалось недостаточнымь для суждения о сходствь полученныхь нами напитковъ съ кефиромь. Мы рьшили произвести ихь количественный анализь и сравнить его съ существующими уже въ литературь анализами кефира. Напитокъ, гдь вегетировали *V. acidilactici* и *Saccharomyces*, мы будемь называть № 2, а гдь вегетировал еще и *V. subtilis* — № 3. Для того, чтобы получить вполне сравнимые результаты, мы применяли въ своихь исследованияхь уже описанные методы и остановились на анализь Садовена, подробибе другихь изучаемаго составь различныхь сортовь кефира.

Мы опишемь прежде всего методы, заимствованные у Садовена и употребленные нами при производствь количественныхь анализовь. Изь бльзовыхь тьл молока количественному опредьлению подлежали казеин, альбуминь и пептоны. Кромь нихь были опредьляемы количество молочной сахара, молочной кислоты и спиртъ. Для опредьления количества казеина — 10 сс. жидкости выналось на взвьшенный фильтр; оставшьяся на фильтр казеинь промывался водой, спиртомь и эфиромь до полного удаления жира, сушился сутки въ водяной бань при 100° и взвьшивался. Для выдьления альбумина фильтратъ оть казеина обрабатывался до слабой кислой реакции слабымь растворомь йода и натрия и княтился до полного свертывания альбумина; полученный на фильтр осадокъ промывался водой, высушивался въ водяной бань и взвьшивался. Для опредьления пептоновъ 100 сс. жидкости посль выдьления казеина и альбумина мы осаждали крйкимь растворомь сулея и фильтровали. Осадокъ смывали съ фильтра водой и пропускали черезь нее сьродородъ до полного осаждения ртути. Жидкость снова фильтровали, и въ фильтрать осаждали пептоны 10-ью объемами безводнаго алкоголя; по получени осадка жидкость фильтровали сквозь взвьшенный фильтр, который подвергался вторичному взвьшиванию. Количество молочной кислоты опредьлялось титрованиемь нор-

мальной щелочью. Для этого 10 cc. испытуемой жидкости разбавлялись до 50 cc. дистиллированной водой, къ смѣси мы прибавляли 5 капель фенол-фотолена и приливали раствор щелочи до получения розовой, исчезающей окраски. Сахаръ опредѣлялся поляризационнымъ способомъ въ фильтратѣ отъ казеина и альбумина. Для опредѣленія количества спирта мы отступили отъ методовъ Садовена. 500 cc. жидкости перегонялись съ водянымъ парами до получения 100 cc. перегона, который нейтрализовался растворомъ соды до средней реакціи и перегонялся вторично на пламени газовой горѣлки. Количество спирта опредѣлялось во второмъ перегонѣ въсами Мора-Вестфала. Углекислота опредѣлялась по количеству спирта. Для опредѣленія количества бѣлковыхъ тѣлъ молока мы свертывали казеинъ слабой соляной кислотой, альбуминъ же въ фильтратѣ выдѣляли кипяченіемъ. Сахаръ опредѣлялся въ поляризационномъ приборѣ осаждеіемъ бѣлковъ насыщеннымъ растворомъ свинцоваго сахара. Эти методы и были употребляемы нами при производствѣ количественныхъ анализовъ.

Для анализа были взяты напитки 2-й и 3-й и притомъ когда броженіе было въ нихъ выражено въ большей интенсивности, что происходило на третью сутки. Вотъ почему для сравненія я привожу изъ работы Садовена анализъ крѣпкого кефира, гдѣ броженіе продолжалось почти столько же времени.

	Анализъ Садовена.	100 cc.	
		Напитокъ 2-й.	3-й день. Напитокъ 3-й.
Казеинъ	2,5670	4,54	4,42
Альбуминъ	0,7680	0,5850	0,5800
Пептоны	0,0222	0,0175	0,0300
Сахаръ	1,5376	2,30	2,40
Молоч. кисл.	1,35	1,70	1,60
Спиртъ	1,5%	0,60	0,75
Углекислота.	по вѣсу	0,60	0,75.

Анализъ молока изъ котораго былъ приготовленъ напитокъ. Казеина 4,55, альбумина 0,6150, сахару 4,25%; пептоновъ нельзя было открыть ни биуретовой реакціей, ни осаждеіемъ сулемой.

Изъ сравненія анализа Садовена съ нашими видно, что исследованная жидкость имѣютъ одинаковой химической составъ; что же касается такого значительнаго различія въ ко-

личествѣ казеина, то нужно принять во вниманіе, что мы употребляли для получения напитка цѣльное молоко, тогда какъ другіе исследователи для этой цѣли брали сѣятое и даже разведенное водой молоко. Сравняя же наши анализы, мы убѣждаемся, что присутствие *B. subtilis* не играетъ никакой роли въ кефирномъ броженіи, которое зависитъ всецѣло отъ вегетаци въ молокѣ *B. acidilactici* и *Saccharomyces*. Главные химическіе процессы, происходящіе при образованіи кефирнаго броженія въ молокѣ, — это расщепленіе молочнаго сахара и образованіе молочной кислоты, спирта и углекислоты. Пептонизація, если и происходитъ, то въ весьма слабой степени, казеинъ и альбуминъ молока не претерпѣваютъ никакихъ количественныхъ измѣненій.

Въ 1886 году Виль доказалъ, что казеинъ кефира обладаетъ свойствомъ, котораго онъ не находилъ въ казеинѣ молока, — именно, онъ содержитъ всего 2—3% солей вмѣсто находимыхъ изъ въ казеинѣ молока 12%. Для доказательства онъ сжигалъ высушенный и лишенный жира казеинъ молока и кефира и взвѣшивалъ получаемую при этомъ золу. Для опредѣленія количества солей въ казеинѣ молока мы свертывали его слабой уксусной кислотой, отфильтровывали, промывали казеинъ и ставили для извлеченія жира на сутки въ аппаратъ Сокслета. Часть высушеннаго казеина взвѣшивалась на фарфоровомъ тиглѣ и сжигалась до получения бѣлой зола на пальномъ огнѣ. Въ двухъ отдѣльныхъ порціяхъ этой зола мы опредѣляли фосфорную кислоту молибденовымъ аммоніемъ и известъ щавелекислымъ аммоніемъ.

Въ казеинѣ стерилизованнаго молока зола было 10%; она состояла почти изъ равныхъ частей извести и фосфорной кислоты.

Для опредѣленія количества солей въ казеинѣ приготовленныхъ нами двухъ сортовъ кефира, различающихся одинъ отъ другаго только по бактериальному своему населенію, мы отфильтровывали казеинъ и дальше поступали такъ же, какъ и въ предыдущемъ исследованіи молока. Наши исследованія вполне подтверждали выводы Била. Количество зола въ напитокѣ 2-мъ было 1,55%, въ напитокѣ же № 3—1,60%; въ обоихъ случаяхъ зола состояла почти исключительно изъ фосфорной кислоты. Это отщепленіе солей въ казеинѣ кефира совершается очень быстро, такъ къ концу первыхъ сутокъ зола казеина кефира приготовленнаго нами изъ чистыхъ культуръ, — 2-го

равнялась 1,85, 3-го — 1,80. Виль, которому принадлежит честь открытия этого факта, даже и не пытался дать ему какое-либо объяснение. Однако этот факт показался нам настолько важным, что мы постарались выяснить себя его экспериментальным путем. Прежде всего мы постарались выяснить себя, не обязаны ли кефир и этим свойством какому-либо из вегетирующих в нем микроорганизмов. Для рѣшения этого вопроса мы произвели исследование на содержание солей в нескольких порциях молока, в которых вегетировали порознь выделенные нами из кефирного грибка *B. subtilis*, *V. acid lactici* и *Saccharomyces*. Исследования эти были произведены через педью после посѣва этих микроорганизмов в молоко по тем самым методам, какие описаны уже нами при исследовании солей казеина молока. Для полного сжигания угля мы прибавляли иногда немого азотнокислого аммония.

Результаты исследований оказались следующие: в казеинѣ молока, свернушемся от вегетации *B. subtilis*, солей было 10%, в казеинѣ же молока, гдѣ вегетировал *Saccharomyces*, — 12%, а гдѣ вегетировал *V. acid lactici* — 1½%.

На основании этих результатов отщепление солей в казеинѣ кефира нужно поставить в зависимости от вегетации в нем *B. acid lactici*, от образуемого им молочнокислого брожения, и, следовательно, такое отщепление должно имѣть мѣсто не при одном кефирном брожении, а при всяком возникновении молочнокислого брожения. Для доказательства этого предположения мы исследовали количество солей в казеинѣ самопроизвольно скисшаго молока, т. е. простоквашѣ, причем оказалось ее 1,75%. Отсюда возникает вопрос, какъ влѣяет молочнокислое брожение на содержание в казеинѣ молока солей. Какъ мы знаем, главным химическим продуктом при образовании молочнокислого брожения является молочная кислота, от которой зависит происходящее при этом процессѣ свертывание казеина. Чтобы выяснить себя, не играет ли роль в процессѣ отщепления солей образование молочной кислоты, мы произвели следующій опыт. Въ колбу съ стерилизованным молоком, мы прибавили столько молочной кислоты, сколько ее находили мы в кефирѣ, т. е. 1,8%. По свертывании казеина было в нем определено количество солей, которой оказалось 1,5. Очевидно, что здѣсь играет роль присутствие молочной кислоты. При видоизмѣненіи этого

опыта оказывается, что не сама молочная кислота является виновницей этого процесса, а ее количество, степень ее концентрации. Пришли мы къ таким выводам на следующих основаниях. Измѣнив количество прибавимой къ молоку молочной кислоты, мы замѣтили и некоторую правильность в отношении между ее количествомъ и количествомъ остающихся в казеинѣ солей. Такъ, при уменьшеніи количества молочной кислоты, солей в казеинѣ оказывалось больше, и в присутствіи 0,85% молочной кислоты, солей в казеинѣ оказалось 10%.

Зависимость отщепления солей в казеинѣ только от количества молочной кислоты побудило насъ исследовать в этомъ направлении дѣйствіе двухъ другихъ кислотъ, а именно уксусной и соляной. Первоначально кислоты эти были взяты в количествахъ, соответствующихъ 1,8% содержанию молочной кислоты в кефирѣ; уксусной было взято 1,2%, солей в казеинѣ оказалось 2%; соляной кислоты 0,72%, казеинѣ содержалъ 1,5% солей. Съ уменьшеніемъ количества кислоты увеличивается содержание солей в казеинѣ, и, наконецъ, когда уксусной кислоты было взято 0,6%, солей в казеинѣ оказалось 10,5%; при уменьшеніи количества соляной кислоты до 0,29%, количество солей увеличилось до 8%. Изъ этихъ опытовъ видно, что и уксусная и соляная кислоты относятся къ этому процессу такъ же, какъ и молочная кислота, и что отщепление солей в казеинѣ можно поставить в зависимость только от степени интенсивности кислотности молока.

Полученные нами факты, помимо своего научнаго интереса, имѣютъ и практическое применение. Такъ, при количественныхъ опредѣленіяхъ казеина, во избежаніе могущихъ быть измѣненій в вѣсѣ отъ большаго или меньшаго количества солей в немъ, нужно точно опредѣлять количество употребленной для его свертыванія кислоты.

Такимъ образомъ, полученный нами искусственный кефиръ обладаетъ и этимъ, присущимъ по исследованиямъ Вила обыкновенному кефиру, свойствомъ — отщеплениемъ солей отъ казеина. Какъ мы это уже видѣли, оба приготовленные нами при помощи чистыхъ культуръ наитка представляли полное какъ качественное, такъ и количественное сходство образующихся химическихъ продуктовъ, тогда какъ бактериологическое исследование показывало постоянное присутствие в одномъ изъ нихъ *B.*

subtilis. Этот факт объясняет нам почти полное отсутствие *B. subtilis* в продажном кефире и подтверждает высказанное нами раньше предположение, что *B. subtilis* играет роль простой основы, стромы грибка, отдельными клетками которой, вследствие кривой связи их друг с другом почти не переходят в молоко.

Какую же роль играет основа в происхождении грибка и возможно ли образование его из двух, играющих роль в химизме процесса, микроорганизмов: *B. acidilactici* и *Saccharomyces*?

Для решения этого вопроса были нами произведены два опыта. В одном из них в 2 дубовых боченка были налиты нами искусственные кефиры № 2-й и № 3-й, каждую неделю молоку сливали до $\frac{3}{4}$ первоначального объема и доливали стерилизованным молоком. Брожение поддерживалось в продолжение 5-ти месяцев. Произведенное по прошествии этого времени тщательное макро- и микроскопическое исследование как жидкости, так и расположенных на внутренней поверхности боченков свертков казенна не открыло и следов образования каких-нибудь зачатков кефирных зерен; находившаяся на препаратах из искусственного кефира № 3 палочка *subtilis* не представляла никакой опасности к образованию зоолен. Во втором опыте в два склянки с искусственным кефиром № 2 и № 3 брошены небольшие кусочки стерилизованной паром губки. Каждую неделю $\frac{2}{3}$ жидкости сбивались стерилизованным молоком. По прошествии тоже 5 месяцев, кусочки губок были подвергнуты тщательному микроскопическому исследованию; на препарат мы ищли обыкновенный скелет губки, на поверхности которого вовсе не было видно постоянно находящихся в большом количестве в обоих жидкостях микроорганизмов.

Постигшая нас неудача в обоих этих опытах показывает нам еще раз, как часто невозможно бывает повторить лабораторным путем *in vitro* то, что совершается в природе естественным образом. По в данном случае значение неудачи наших исследований значительно умалится предположением, что процесс, который мы хотели воспроизвести опытным путем в продолжение столь короткого времени, потребовал бы может, для своего естественного образования в природе десятки или даже сотни лет. Эти

соображения должны побудить последующих исследователей с неослабляющей энергией стремиться к цели проследить опытным путем образование такого сложного организованного бродила, какое мы имеем в кефирном грибок.

Результаты наших исследований позволяют сделать следующие выводы по изучаемому нами вопросу.

Кефирный грибок представляет собою сложение трех видов микроорганизмов, причем сожительство это наблюдается только в периферических частях грибка. Микроорганизмы эти — молочнокислая бактерия, дрожжевая клетка и сырная бактерия. Последняя образует большую, центральную часть грибка, на периферии которого тонким слоем лежат клетки молочнокислой бактерии и дрожжевые клетки.

Вызываемое грибом брожение молока зависит от присутствия в грибе молочнокислой бактерии и дрожжевых клеток. Первая производит молочнокислое брожение молока, дрожжи вызывают в кислой среде спиртовое брожение; оба же эти процесса в совокупности и составляют кефирное брожение молока. Вациллярная форма, *B. subtilis*, не играет при этом брожении видной роли; приписываемое ей образование пептонов, по нашим собственным исследованиям, происходит в такой незначительной степени, какая найдена нами и при вегетации одной молочнокислой бактерии в молоке. Вациллярная форма, впрочем, все же, играет роль основы, носителя *B. acidilactici* и *Saccharomyces*, и мы представляем себе следующую возможность естественного происхождения кефирного бродила.

Вегетария в молоке, вациллярная форма образовала густое, плотное сгущение — пленку; на такой пленке и расположились попавшие в молоко микроорганизмы молочнокислой бактерии и дрожжевые клетки и образовали описанные нами выше бугорки, наросты. Покрытая такими бугорками пленка постепенно скручивалась, сморщивалась и, наконец, дала такое сложное по очертанию образование, как кефирный грибок. Не нужно забывать, что процесс образования бродила длится, может быть, очень продолжительное время, поэтому не удивительно и неудача, постигшая нас в попытке получения искусственных кефирных зерен.

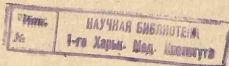
Нечеткое подтверждение такого воззрения мы находим в кумысном брожении. Как показал Голубов, в этом брожении участвуют те же микроорганизмы, что и в ке-

фирь, т.-е. молочнокислая бактерия и дрожжи. Между тем, мы не имеем для кумыса такого организованного брожения, как кефирный грибок; закваской здесь служат старый кумыс.

Микроорганизмы поверхностного слоя грибка находятся в слабой связи между собою и легко переходят в молоко, где и размножаются очень быстро; палочки же *B. subtilis* из основы грибка переходят в жидкость в очень небольшом количестве, благодаря кривой связи между отдельными клетками. Исследуя продажный кефир, мы убедились в его значительном бактериальном загрязнении. Этим и объясняются, вероятно, те случаи вредного действия его на человеческий организм, наблюдаемые нередко за последнее время. Главную роль здесь играет полное отсутствие методов, рекомендуемых бактериологической техникой против бактериального загрязнения при приготовлении кефира, почему микроорганизмы загрязнения и попадают в напиток. Поэтому нам кажется особенно важным получение нами кефирного брожения молока при посредстве чистых культур, выделенных из грибка микроорганизмов. Помимо своего научного интереса факт этот имеет большое практическое значение для производства свободного от бактериального загрязнения лечебного напитка. Только при таком научно-лабораторном способе приготовления мы можем требовать от кефира постоянства его химического состава, а следовательно вместе с ним и постоянства его терапевтического действия. Главные продукты, получаемые при кефирном брожении, по нашим исследованиям, — молочная кислота, спирт и углекислота; количество же жировых тел, как мы это видели, остается без изменения. Что касается до открытия Вилемь факта отщепления солей от казеина кефира, то нам удалось доказать, что отщепление это действительно имеет место при кефирном брожении и что зависит оно только от присутствия в напитке молочной кислоты. Мы закончим наши выводы пожеланием, чтобы будущие исследователи в основу своих суждений о достоинстве кефира полагали не одни только субъективные ощущения, воспринимаемые лишь органами чувств. От напитка должно требовать постоянства его химического состава, и, как всякое лекарство, кефир должен подлежать строгому научному контролю — контролю бактериологического исследования.

Положения.

- 1) Кефирный грибок представляет собой трех видов микроорганизмов: *B. acidi lactici*, *Saccharomyces* и *B. subtilis*.
- 2) Для образования кефирного брожения необходимо присутствие *B. acidi lactici* и *Saccharomyces*.
- 3) *B. subtilis* не играет существенной роли в кефирном брожении.
- 4) Отщепление большей части солей от казеина кефира зависит от количества присутствующей в нем молочной кислоты.
- 5) С помощью выделенных из кефирного грибка чистых культур микроорганизмов, составляющих его, можно вызвать кефирное брожение молока.
- 6) Бутылочный способ приготовления кефира имеет научные основания.
- 7) Продажный кефир, вследствие значительного бактериального загрязнения, должен подлежать постоянному контролю бактериологического исследования.
- 8) Терпешный способ приготовления кефира должен быть изменен согласно современным принципам и методам бактериологической техники.



- 1) Stern. Deutsche Medicin. Wochenschrift 1894 г.
- 2) Kühne. Centralblatt f. klinische Medicin 1884 г.
- 3) Neuss. Pharmac. Zeitung 1885 г.
- 4) Levy. Deutsche Med. Zeitung 1886 г.
- 5) Beyerinck. Archiv Neerland № 5.

В. Литература общая.

- 1) Гоппе Зейлеръ. Физиологическая химія.
- 2) Канонниковъ. Исследование пищевыхъ веществъ.
- 3) Мороховецъ. Единство бѣлковыхъ тѣлъ.
- 4) Pfeifer. Die Milchanalyse.
- 5) Френкель. Основы бактериологіи.
- 6) Вейтовъ. Медицинская бактериологія.
- 7) Eisenberg. Bacterien.
- 8) Голубовъ. Кумысъ.

Литература.

А. Специальная.

а) Подлинники:

- 1) Сяповичъ. Протоколъ Кавказск. Мед. Общества 1867 г.
- 2) Шабловскій. Военно-Медицинскій журналъ 1887 г.
- 3) Керль. Bulletin de la société des natural. de Moscou. 1881 г.
- 4) Vuchner. Nägelis. Untersuch. über niedere Pilze. 1882 г.
- 5) Соболевъ. Кефиръ. 1883 г.
- 6) Скотовскій. Врачъ 1883 г.
- 7) Садовень. Врачъ 1883 г.
- 8) Сорокинъ. Растительные паразиты. 1882—84 г.
- 9) Сорокинъ. Дневникъ Общества Казанскихъ врачей 1883 г.
- 10) Чернова-Попова. Труды Общества русскихъ врачей въ С. Петербургѣ, 1883—4 г.
- 11) Подвысоцкій. Кефиръ. 1884 г.
- 12) Струве. Врачъ 1884 г.
- 13) Подвысоцкій. Врачъ 1884 г.
- 14) Подвысоцкій. Международная клиника 1884 г.
- 15) Цопфъ. Дробанки бактеріи. 1884 г.
- 16) Ньерре. Deutsche Medicin. Wochenschrift 1884 г.
- 17) Krahnhal. Deutsches Archiv. f. klinische Medic. 1884 г.
- 18) Сорокинъ. Врачъ 1885 г.
- 19) Штанге. Прилож. къ руководству Цимсена. 1886 г.
- 20) Биль. Фармацевтич. журналъ 1885, 1886 г.
- 21) Боголюбовъ. Кефиръ. 1888 г.
- 22) Тихомировъ. Руководство къ фармакогнози. 1888 г.
- 23) Massé. Bacteriologia. 1892 г.
- 24) Jörgensen. Die Microorganismen der Gärungsindustrie 1892 г.
- 25) Дмитриевъ. Кефиръ 1894 г.

б) По рефератамъ въ Jahresberichte и Schmidts Jahrbücher.

Объяснение рисунковъ.

№ I. Распианный кефирный грибокъ. Microsc. Zeiss. Aporchrom. ocul. 6, об. 2,0 mm., масляя. иммерзия. Окраска Лефлеровскимъ растворомъ Methylen blau.

- 1) клѣтки *Saccharomyces*
- 2) палочки *B. subtilis*
- 3)
- 4) кокки, диплококки и палочки *B. acidilactici*.
- 5)

№ II. Разрѣзъ черезъ весь кефирный грибокъ. Ocul. 4, об. 16 mm. Окраска Methylen blau и eosin

- 1) не содержащая микроорганизмовъ часть грибка
- 2) слой *B. acidilactici* и *Saccharomyces*
- 3) слой палочекъ *B. subtilis*.

№ III. *B. acidilactici*. Высыхая капля изъ молочной сыворотки. Ocul. 4, об. 2,0 mm., масляя. иммерзия. Окраска Лефлеровскимъ растворомъ Methylen blau.

- 1) кокки
 - 2) диплококки
 - 3) короткия палочки
 - 4) длинныя палочки.
- } *B. ac. dilactici*.

№ IV. Капля среднего кефира. Ocul. 4, об. 2,0 mm. Масляя иммерзия. Окраска Лефлѣр. раств. Methylen blau

- 1) клѣтки *Saccharomyces*
- 2) палочки *B. subtilis*
- 3)
- 4) диплококки и палочки *B. acidilactici*
- 5)
- 6) *B. fluorescens putidus liquefaciens*.

№ V. *B. subtilis* Ocul. 8. об. 1,5 mm. масляя. иммерзия. Окраска на споры Цилемъ и Methylen blau.

- 1) палочки
- 2) споры.

№ VI. Выдѣленный сапрофитъ, представляющій разновидность *B. subtilis*. Ocul. 8, об. 1,5 mm. Окраска на споры Цилемъ и Methylen blau

- 1) палочки
- 2) споры.

