

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 28 (1937)

**Heft:** 5-6

**Artikel:** Versuche über die unter dem Einfluss der Bakterienentwicklung in der Milch auftretenden Veränderungen, ein Beitrag zur Abklärung des Begriffes der "erstickten" Milch

**Autor:** Häni, J.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982906>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 27.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

# Versuche über die unter dem Einfluss der Bakterienentwicklung in der Milch auftretenden Veränderungen, ein Beitrag zur Abklärung des Begriffes der „erstickten“ Milch.

Von J. HÄNI, Lebensmittelinspektor, Bern.

## Inhaltsverzeichnis.

<i>Einleitung</i>	1
<i>Literaturübersicht</i>	2
<i>Arbeitsplan</i>	3
<b>A. Geruchsprüfungen</b>	
1. <i>Klassifizierung der Gerüche</i>	4
a) Literaturübersicht	4
b) Eigene Untersuchungen	5
2. <i>Beziehung zwischen Geruch und Säuregrad</i>	6
3. <i>Das «Ersticken», ein bakteriologischer Vorgang</i>	7
<b>B. Der Einfluss der Aufbewahrungsart auf die Keimverhältnisse</b>	
1. <i>Arbeitsverfahren</i>	8
2. <i>Versuche mit frisch gemolkener Milch</i>	9
a) Milch in offenen und verschlossenen Gefässen aufbewahrt	9
b) Der Einfluss des Lüftens frischgemolkener Milch	10
c) Zusammenfassung der in den Versuchen 1—9 erzielten Ergebnisse	11
3. <i>Versuche mit gewöhnlicher Marktmilch</i>	12
a) Verschiedene Aufbewahrungsarten bei derselben Milch	12
b) Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche 10—13	13
4. <i>Getrennte Untersuchung der Rahm- und Milchschicht</i>	14
a) Allgemeines	14
b) Aufbewahrung der Milch in offenen und verschlossenen Gefässen	15
c) Lufterneuerung über der Milchschicht	16
d) Untersuchungen über die Entwicklung der Rahmflora in kurzen Zeitabständen	17
e) Aufbewahrung der Milch unter Kohlensäure und reinem Sauerstoff	18
f) Zusammenfassende Bemerkungen zu den Ergebnissen der Versuche 10—22	19
<b>C. Systematische Stellung der wichtigsten in «erstickter» Milch gefundenen Bakterienarten</b>	
1. <i>Milchsäurebakterien</i>	20
a) Streptokokken	20
b) Mikrokokken	21
2. <i>Peptonisierende Stäbchen</i>	22
a) Fluoreszenten-Gruppe	22
b) Proteus-Gruppe	23
3. <i>Alkalibildende Kurzstäbchen</i>	24
a) Bisherige Untersuchungen	24
b) Eigene Untersuchungen	25
c) Diskussion der Bestimmungsergebnisse	26
4. <i>Andere nicht peptonisierende Stäbchen</i>	27
5. <i>Coli-aerogenes-Gruppe</i>	28
<b>D. Künstliche Erzeugung des »stickigen« Geruches</b>	
1. <i>Versuche mit sterilem Rahm</i>	29
2. <i>Versuche mit roher und erhitzter Vollmilch</i>	30

**E. Beeinflussung der Milchsäurebakterien durch Alkalibildner**

1. *Bisherige Untersuchungen über die gegenseitige Beeinflussung verschiedener Bakterienarten* . . . . .
2. *Eigene Untersuchungen* . . . . .
- a) Versuche mit roher und steriler Vollmilch . . . . .
- b) Versuche mit steriler Magermilch . . . . .
- c) Versuche mit Milchzuckerbouillon . . . . .
- d) Diskussion der Ergebnisse . . . . .

**F. Zusammenfassung** . . . . .**Einleitung.**

Durch zahlreiche Untersuchungen ist schon gezeigt worden, dass die in der Milch sich entwickelnden Bakterien in ihr die verschiedensten Veränderungen hervorzurufen vermögen. So beruht vor allem die allgemein bekannte Selbstsäuerung der Milch ausschliesslich auf Bakterientätigkeit, wobei jener Vorgang von einem bestimmten Zeitpunkt ab mit deutlich erkennbaren Veränderungen einhergeht (Zunahme des Säuregrades, Abnahme der Kochfähigkeit). Es vollziehen sich aber in aufbewahrter Milch schon vorher Umsetzungsprozesse, die nicht so eindeutig festgestellt werden können. Der Säuregrad nimmt nicht oder nur in sehr geringem Masse zu. Auch die Kochfähigkeit wird in keiner Weise beeinträchtigt. Die Milch aber riecht schwach säuerlich, muffig oder stallartig. Da diese Gerüche hauptsächlich in verschlossenen Gefässen wahrgenommen werden, gilt solche Milch meistens als «erstickt».

Man findet jedoch sowohl beim Praktiker als auch in der Literatur keine einheitliche Auffassung über den Begriff der «erstickten» Milch. Der Käser versteht darunter solche Milch, die während des Aufstellens in den Gebsen einen säuerlichen Geruch angenommen hat. Sehr oft wird aber auch diejenige Milch als «erstickt» oder «stickig» bezeichnet, der beim Abdecken des Transportgefäßes ein scharfer Stallgeruch entströmt. Hier wird die Geruchsveränderung durch die aufgenommenen Stallgase hervorgerufen, während sie im ersten Fall erst während der Aufbewahrung entstanden ist. Vereinzelt fanden wir auch die Ansicht vertreten, dass sich «erstickte» Milch hauptsächlich durch eine kurze Reduktasezeit bei relativ niedrigem Säuregrad auszeichne.

Im allgemeinen versteht man unter «Ersticken» das Aufhören von Lebensvorgängen infolge Luftmangels. Von der einseitigen Auffassung ausgehend, dass das organische Leben vor allem Luft benötige, ist der Begriff «ersticken» auch auf gewisse Veränderungen übertragen worden, die organische Stoffe unter Luftabschluss oder ungenügender Luftpuffuhr erleiden.

Man spricht von «ersticktem» Holz, «ersticktem» Gras, «ersticktem» Mehl usw. Immer handelt es sich um Veränderungen, die auf einen Luftmangel zurückzuführen sind. Dabei ist dieser häufig nur indirekt daran beteiligt. In den meisten Fällen können die genannten Produkte infolge der fehlenden Luftpirkulation nicht genügend austrocknen, oder sie werden in

der mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre feucht, sodass sich Schimmel-pilze und andere Mikroorganismen zu entwickeln vermögen. Jenen «erstickten» Stoffen entströmt daher zumeist ein muffiger Geruch.

Als eine ähnliche unter Luftabschluss sich vollziehende geruchliche Veränderung stellt man sich auch das «Ersticken» der Milch vor. Und umgekehrt wird die Behebung des Luftmangels, bzw. das Belüften der Milch als ein geeignetes Mittel betrachtet, die Entstehung jenes Milchfehlers zu verhüten. Aus dieser Ueberlegung heraus hat sich auch die weitverbreitete Ansicht entwickelt, dass die Milch so wenig als möglich zugedeckt stehen gelassen werden dürfe. Eine besondere Bedeutung wird daher vielfach auch den Luftlöchern in den Deckeln der Milchtransportgefässe zugeschrieben.

In der Milchwirtschaft spielt die «erstickte» Milch eine nicht unbedeutende Rolle. «Stickige» Milch soll die «kurzen», säuerlichen Gläsler-käse begünstigen. Als Konsummilch ist sie ihrer widerlichen Gerüche und der kurzen Haltbarkeit wegen verpönt. Ueber die Ursachen dieser Milchveränderung sind jedoch unseres Wissens noch keine eingehenderen Untersuchungen durchgeführt worden. Es schien uns daher nicht nur vom praktischen, sondern auch vom wissenschaftlichen Standpunkt aus wünschenswert, einen tieferen Einblick in das Wesen der «erstickten» Milch zu gewinnen.

Dabei handelte es sich zunächst einmal darum, festzustellen, ob die abnormalen Gerüche nur in den verschlossenen Gefässen entstehen. Ferner musste darüber Klarheit geschaffen werden, ob die Milch infolge eines rein chemischen Vorganges «erstickt» oder ob Bakterien dafür verantwortlich zu machen sind. Des weiteren ergab sich für uns die Aufgabe, die verschiedenen Aufbewahrungsarten in ihrem Einfluss auf die bakteriellen Veränderungen in der Milch zu studieren. Mit Hilfe dieser Ergebnisse lässt sich schliesslich die Frage beantworten, ob die Milch vorteilhafter bei Luftzutritt oder -abschluss aufzubewahren sei.

### Literaturübersicht.

#### a) Ueber die Entwicklung der Bakterienflora in aufbewahrter Milch.

*Soxlet*<sup>1)</sup> bezeichnet die Zeit zwischen der Gewinnung der Milch und der Zunahme des Säuregrades als Inkubationsstadium, dessen Dauer von der Aufbewahrungstemperatur abhängig sei. Es betrug bei 10° 48—72 Std., bei 15° 20—24 Std., bei 20° 12—20 Std. und bei 25° 8 Std.

Systematische Untersuchungen über die bakteriellen Veränderungen während des Inkubationsstadiums sind vor allem von Koning, Wolff, van der Leck und später von Hanke ausgeführt worden.

*Koning*<sup>2)</sup> befasste sich nicht nur mit dem Inkubationsstadium, sondern verfolgte die Bakterienentwicklung bis zur völligen Zersetzung der Milch. Dabei unterscheidet er acht Zerlegungsphasen, die langsam ineinander übergehen. In jeder dieser Phasen waren eine oder mehrere Bakterienarten vorherrschend. In der ersten, der bakteriziden Phase, ging ein Teil der Organismen zugrunde. In der zweiten Phase entwickelten sich die peptonisierenden Bakterien. *Bac. mesentericus*, *Bac. subtilis* und *Bact. fluorescens liqu.* wurden wirksam. Die Reaktion war schwach sauer oder alkalisch. Der Milchzucker blieb noch unverändert. In der dritten Phase vergoren aerobe und anaerobe Mikroorganismen den Milchzucker zu Milchsäure. Es entwickelten sich die für jede Gegend spezifisch sein sollenden Milchsäure-bakterien. Der Säuregrad nahm zu. Erst als er eine gewisse Grenze überschritten hatte, konnte ein Zusammenhang zwischen der Zunahme des Säuregrades und der Anzahl der Milch-

säurebakterien erkannt werden. Er war abhängig von ihrer Art und der Temperatur. Koning macht für die spontane Säuerung der Milch nicht allein die Milchsäurebakterien verantwortlich. Sie ist nach seiner Auffassung vielmehr die Folge des symbiotischen Zusammenwirkens verschiedener Bakterienarten. So sollen die eiweißspaltenden Mikroorganismen für andere Arten leicht verwertbare Stickstoffverbindungen bilden. In der vierten Phase war der *Bac. faecalis Petruschky* vorherrschend. Er griff das peptonisierte Kasein an. Der wichtigste Organismus der fünften Phase war der *Bac. acidi paralactici Kozai*. Die Milch gerann infolge der stark sauren Reaktion. Es vermehrten sich bereits säurezehrende Schimmelpilze. In der siebten Phase entwickelten sich vorwiegend die anaeroben Buttersäurebakterien. Und in der achten Phase endlich entstand unter dem Einfluss verschiedener Schimmelpilze eine faulige Flüssigkeit.

Koning kam ferner zum Schlusse, dass der Säuregrad keinen zuverlässigen Aufschluss über das Alter der Milch zu geben vermöge. Dieses hänge auch nicht davon ab, wie lange die Milch aufbewahrt worden sei, sondern werde allein durch die Zahl der Bakterien beeinflusst. Sodann soll bei der Erhöhung des Säuregrades die Form des Gefäßes eine wichtige Rolle spielen. In flacher Schicht vollziehe sich die Säuerung der Milch langsamer als in hoher Schicht. Auch die Durchlüftung der Milch habe einen Einfluss auf die bakterielle Zersetzung.

*Wolff*<sup>3)</sup> stellte fest, dass sich während des Inkubationsstadiums die anfänglich sehr verschiedenartige Bakterienflora immer vereinfachte, bis zuletzt nur noch einige wenige Arten übrigblieben. Die ermittelten Organismen werden in sechs Gruppen zusammengefasst: Kokken, Milchsäurebakterien, Kurzstäbchen (nicht der *Coli-aerogenes*-Gruppe angehörend), *Coli-aerogenes*-Gruppe, Sporenbildner, andere mehr zufällige Milchbewohner. Anfänglich vermehrten sich in der aufbewahrten Milch vor allem die verflüssigenden Kokken. Die verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen hatten auf das Vorkommen der verschiedenen Arten keinen wesentlichen Einfluss. Wolff glaubt, dass die Kokken zufolge der peptonisierenden Fähigkeit die Milch unter geeigneten Bedingungen ungünstig beeinflussen können. Die wichtigste Rolle spielten die Milchsäurebakterien: *Bact. Güntheri* und die milchsäurebildenden Streptokokken. In der frischen Milch waren sie meist nur in geringer Zahl vorhanden. Je nach der Aufbewahrungstemperatur vermehrten sie sich mehr oder weniger rasch und überflügelten nach einer gewissen Zeit alle andern Organismen. Unter den Gelatine nicht verflüssigenden Kurzstäbchen waren besonders die Alkalibildner vertreten (unbeweglich, oft kokkenartig, streng aerob). Sie wuchsen bei allen für die Milchsäurebakterien günstigen Temperaturen und entwickelten sich ungehindert neben ihnen, sodass sie kurz vor der Gerinnung der Milch oft noch in wenigen Prozenten auftraten. Verhältnismässig häufig wurden in der frischen Milch auch die verflüssigenden Kurzstäbchen gefunden. Sie waren gegenüber den nicht verflüssigenden vorherrschend und konnten während längerer Zeit festgestellt werden. Die verflüssigenden Stäbchen gehörten 10 Arten an und waren die einzigen Organismen, die sich bei der Temperatur von 5—7° wesentlich vermehrten. Die *Coli-aerogenes*-Gruppe war nur spärlich vertreten. Auch die Sporenbildner waren in den untersuchten Milchproben nur in geringer Zahl vorhanden. Sie gehörten vor allem der Heu-Kartoffelbazillen-Gruppe an. Die Sporen keimten aber nicht aus.

*Van der Leck*<sup>4)</sup> unterscheidet bei den während der Aufbewahrung sich entwickelnden Bakterien eine Vor- und eine Hauptflora, wobei der Unterschied in der verschiedenen Empfindlichkeit der Organismen gegen Milchsäure beruhe. Zur Vorflora rechnet er diejenigen Bakterien, die sich entwickeln, bevor die Milch anfängt sauer zu werden. Dazu rechnet er die bei niedriger Temperatur wachsenden Mikrokokken des Kuheuters und die Angehörigen der Fluoreszentengruppe, die Heu- und Buttersäurebazillen, dann die Milchfehler erzeugenden Organismen und die harnstoffspaltenden Bakterien. Die Hauptflora wird in zwei Phasen geteilt. Der ersten gehören die *Coli-aerogenes*-Gruppe und die aromabildenden Bakterien an. Zur zweiten Phase werden gerechnet die Milchsäurebakterien (Laktokokken und Laktobazillen), die Laktosehefen und *Oidium lactis*.

*Hanke*<sup>5)</sup> stellte fest, dass die Aufbewahrungsart einen Einfluss auf die Haltbarkeit der Milch hat. Zugedeckte Milch blieb weniger lange frisch und nahm einen unangenehmen stallartigen Geruch an. Bedeutende Unterschiede bestanden auch zwischen der in hoher und niedriger Schicht aufbewahrten Milch. Diese zeigte z. B. nach 27 Std. beim Kochen noch keine Anzeichen der Gerinnung; die erstere dagegen war nicht mehr kochfähig. Der Keimgehalt war bei beiden 24 Stunden alten Proben ungefähr gleich hoch.

*Hanusch*<sup>6)</sup> weist in seiner Arbeit über das Altern der Milch darauf hin, dass die Keimzahl der gealterten Milch nicht immer parallel der Frischmilchkeimzahl verläuft. Ferner vermochte der absolute Säuregrad nicht genügend Aufschluss über den Reifungsgrad der Käseremilch zu geben. Der Säuregrad hatte nach 12 Stunden teilweise zugenommen, bei andern Proben war er zurückgegangen oder unverändert geblieben. Der *Streptococcus lactis* war in der gealterten Milch nicht in dem Masse vorhanden, wie man nach der Aufbewahrungs temperatur von 18° hätte erwarten können. Daneben bestand die Bakterienflora aus thermophilen Streptokokken, Euterkokken und vor allem alkalibildenden Organismen. Diese waren in der Milch einer Käserei mit Betriebsstörungen besonders reichlich vertreten.

Nach welcher Richtung sich die Bakterienflora in aufbewahrter Milch entwickelt, hängt zu einem guten Teil von der «Disposition der Milch» ab. *Richter*<sup>7)</sup> zeigte durch Untersuchungen über die Entstehung eines adstringierenden schwach bitteren Geschmackes in Milch, dass eine bestimmte Bakterienentwicklung durch die Verschiebung des Basen-Säure-Gleichgewichtes bedingt worden war. Besonders das Verhältnis der Milchsäurebakterien zu den Nichtsäurebildnern war davon abhängig. Bei der hohen Pufferungskapazität, bedingt durch den höheren Kalk- und den niedrigeren Phosphorsäuregehalt der Milch, wurden die Milchsäurebakterien von fettpaltenden Organismen unterdrückt. Richter vermutet daher, dass neben der Ausgangsflora die «Disposition der Milch» auch für andere Fehler, die durch eine einseitige Entwicklung bestimmter Bakterien hervorgerufen werden, auf einer hohen Anfangspufferung beruhe.

*Bahrs*<sup>8)</sup> stellte fest, dass die Entwicklung der Bakterienflora kühle aufbewahrter Milch neben der Pufferung auch durch die Reaktion der frischen normalen Milch beeinflusst wird. In der stark gepufferten Milch vermehrten sich die Alkalibildner auf Kosten der Milchsäurebakterien. Auch die alkalisch reagierende Milch begünstigte die Entwicklung der Nichtsäurebildner.

### b) Ueber das «Ersticken» der Milch.

Nach *Weigmann*<sup>9)</sup> «erstickt» die Milch, wenn sie nach dem Melken nicht gelüftet worden ist und in zugedeckten Kannen ungekühlt stehen bleibt. Der Fehler soll aber auch dann auftreten, wenn die kuhwarne Milch in verschlossenen Gefässen ins Kühlwasser gestellt wird. Der Geruch der «erstickten» Milch wird als stallartig, futterig-sauer, rüben- oder kohlartig bezeichnet. Weigmann schrieb früher das «Ersticken» der Milch der Tätigkeit anaerober und fakultativ anaerober Bakterien zu, die sich in den verschlossenen Gefässen gut zu entwickeln vermögen. Später werden für jene Geruchsveränderungen vor allem peptonisierende und fettpaltende Bakterien verantwortlich gemacht.

*Wolff A.*<sup>10)</sup> ist ebenfalls der Auffassung, dass die Milch in verschlossen gehaltenen Kannen «erstickt», wobei der Gas- und Gesamtbakteriengehalt die ausschlaggebende Rolle spielen. Ihre ungünstigen Wirkungen werden einer mangelhaften Lüftung und Kühlung zugeschrieben.

*Peter*<sup>11)</sup> glaubt, dass die Milch in den verschlossenen Gefässen infolge Luftmangels «ersticke». Es sei jedoch noch nicht bekannt, auf welchen Vorgängen das «Ersticken» beruhe. Er vermutet, dass sich bei Luftabschluss Schädlinge der Milch- und Käsegärung vermehren und empfiehlt infolgedessen, die Milch nur so lang als unbedingt nötig in verschlossenen Gefässen zu transportieren und die Kannendeckel mit Luftlöchern zu versehen.

*Ritter* und *Stüssi*<sup>12)</sup> wenden den Begriff «erstickt» auch bei Rahm an. Sie unterscheiden dabei zwischen «erstickten» und verschiedenen andern Gerüchen des Rahmes, wie stechend, scharf, muffig, nach Kuhstall, futterig usw., die sich zwischen der Rahmoberfläche und dem Kannendeckel angesammelt haben. Nach den Ausführungen der beiden Autoren dürften sie unter «ersticktem» Rahm vor allem ansauren oder überreifen Rahm verstehen.

Besondere Bedeutung misst *Bieri*<sup>13)</sup> den Luftlöchern in den Deckeln der Milchtransportgefässe bei. Er ist der Ansicht, dass die Milchgase während des Transportes entweichen müssen, ansonst sie von der Milch absorbiert werden, wodurch sie «erstickt». Das Entlüftungslöch soll einen Durchmesser von ca. 7 mm aufweisen. Es ist nur da entbehrlich, wo der Käserieweg weniger als 200 m beträgt und beim Transport gekühlter Milch, weil aus dieser die Gase meist schon entwichen sind. Nach *Weigmann*<sup>14)</sup> ist von einer deutschen Firma sogar eine Milchkanne mit besonderem Entlüftungsdeckel (Stechdeckel mit 30 Löchern von 4 mm Weite) hergestellt worden.

Der Gasgehalt der frischgemolkenen Milch beträgt nach Untersuchungen von *Thörner*<sup>15)</sup> 5,7—8 Vol.-%, und zwar 0,4—1% Sauerstoff, 2,3—3,3% Stickstoff und 5,5—7,3% Kohlensäure. Um diese Gase so rasch als möglich aus der Milch zu entfernen, ist das Lüften der Milch empfohlen worden. Dieses erfolgt am einfachsten dadurch, dass man sie in dünner Schicht über eine Fläche fliessen lässt, wie es beim Berieselungskühler der Fall ist. Vielfach soll damit auch nur bezweckt werden, die Milch von Stall- und andern Gerüchen, die sie aus der Umgebung aufgenommen hat, zu befreien.

Eingehende Untersuchungen über die Wirkung des Lüftens wurden erstmals von *Marshall*<sup>16)</sup> ausgeführt. Er stellte fest, dass dabei die Kohlensäure entweicht und der Sauerstoffgehalt der Milch zunimmt. Schlechte Gerüche, herrührend von scharfriechenden Futtermitteln, liessen sich fast restlos entfernen. Dagegen war belüftete Milch nicht haltbarer als unbehandelte und verschlossen aufbewahrte Milch. Auch hatte das Lüften auf die Zusammensetzung der Bakterienflora und auf die Keimzahl keinen Einfluss.

*Burri*<sup>17)</sup> vertritt die Auffassung, dass mit dem Lüften der Milch nichts weiter als die Entfernung unangenehm riechender Stoffe erzielt werden könne. Es ist ein «Auswaschen der Milch mit Luft». Er glaubt, dass ein ausgiebiges Lüften der Milch diese eher ungünstig

beeinflusse, indem durch die Sauerstoffzufuhr die Entwicklung unerwünschter aerober Bakterien gefördert werde, während für die nützlichen Milchsäurebakterien der Sauerstoff sogar störend wirke. Dass Milch in verschlossenen Gefässen häufig rascher sauer wird, d. h. «erstickt», ist nach Burri weniger dem Luftmangel zuzuschreiben, als vielmehr dem Umstand, dass sich zugedeckte frische Milch bedeutend langsamer abkühlt. *Fleischmann*<sup>18)</sup> dagegen beurteilt die Sauerstoffanreicherung der Milch eher günstig, indem dadurch die Entwicklung schädlicher anaerober Bakterien erschwert werde.

Auch in neuerer Zeit findet man immer wieder die Ansicht vertreten, dass eine ungenügende Entlüftung der Milch und dem Rahm schädlich sei. *Michaud*<sup>19)</sup> führt den hohen Prozentsatz der während der wärmeren Jahreszeit in die Molkereien eingelieferten nachteilig veränderten Milch vor allem auf eine ungenügende Kühlung und Lüftung der Milch zurück. Auch *Moser*<sup>20)</sup> kommt auf Grund seiner in Deutschland durchgeföhrten Untersuchungen zum Schlusse, dass das vorzeitige Verderben der Milch neben zu langem Stehlassen der vollen Kannen im Stall durch mangelhafte Entgasung und Abkühlung der Milch, sowie durch die Aufbewahrung derselben in verschlossenen Gefässen verursacht werde. *Washabum*<sup>21)</sup> verlangt eine gute Entlüftung der frisch gemolkenen Milch auch zur Butter- und Käsebereitung. In einem Aufruf der Butterzentrale Burgdorf<sup>22)</sup> an die Zentrifugabetriebe wird ebenfalls Gewicht auf eine gute Entlüftung des Rahmes gelegt.

Es sind auch besondere Entlüftungsvorrichtungen für Milch gebaut worden. Nach *Fleischmann*<sup>23)</sup> sind solche in Amerika schon seit 1870 im Gebrauche. Man wollte dort vor allem den tierischen Geruch der Milch entfernen. In der vor einigen Jahren in den Handel gebrachten Kleinmilchkammer, System *Küster*<sup>24)</sup>, wird die Milch neben der Abkühlung mittels eines Berieselungskühlers noch in besonderer Weise entlüftet, um das «Sticken» der Milch im geschlossenen Apparat zu verhüten. Es wird zwar von der Prüfungsstelle erwähnt, dass die vor und nach der Belüftung kontrollierte Milch im Geschmack und im Geruch keinen Unterschied aufgewiesen habe. *Hüttig* und seine Mitarbeiter<sup>25)</sup> empfehlen die Reinigungsentrifuge zum Entlüften der Milch. Dabei haben sie aber weniger die Entgasung der Milch zur Verhütung des «Erstickens» im Auge, als vielmehr die Befreiung der bei ausgesprochener Rübenfütterung erzeugten Milch von unangenehmen Gerüchen. Eine hinreichende Entgasung wurde erst bei einer Temperatur von 60—65° erreicht.

### Arbeitsplan.

Die Versuche wurden mit frisch gemolkener und gewöhnlicher Marktmilch durchgeföhr. Dabei bewahrten wir die Proben in offenen und verschlossenen Gefässen auf, wobei wir uns hie und da neben dem gewöhnlichen auch des «anaeroben Verschlusses» bedienten.

Ferner suchten wir den Einfluss der Füllungshöhe festzustellen, indem wir die verschlossenen Gefässer ganz oder nur zum Teil füllten.

Daneben wurde die Milch unter besonders günstigen aeroberen Verhältnissen aufbewahrt. Die Aufstellung der Milch erfolgte hierbei in niedrigen Schichten oder sie wurde durch häufiges Rühren bzw. Durchleiten von Luft mit Sauerstoff angereichert.

Zur Abklärung der Frage, ob die Milchgase am «Erstickten» der Milch beteiligt seien, führten wir vergleichende Untersuchungen mit speziell entlüfteter Milch durch. Das Entlüften hat zur Folge, dass die betreffenden Gase entweichen.

Diese bestehen hauptsächlich aus Kohlensäure. Ihren Einfluss auf die Entwicklung der Mikroflora untersuchten wir in der Weise, dass wir die Milch auch unter reiner Kohlensäure aufbewahrten. Parallel dazu wurde an deren Stelle reiner Sauerstoff verwendet.

Es ist auch denkbar, dass die in verschlossenen Gefässen im Luftraum sich anammelnden gasförmigen Stoffwechselprodukte der Bakterien auf die weitere Entwicklung der letztern, vor allem an der Rahmoberfläche, einen bestimmenden Einfluss auszuüben vermögen. Der Beantwortung dieser Frage dienten Versuche, in denen bei einem Teil der aufbewahrten Milch die über ihr befindliche Luftsicht ständig erneuert wurde.

Da wir uns in erster Linie die Aufgabe gestellt hatten, zu untersuchen, auf welchen Vorgängen die Geruchsveränderungen bei verschlossen aufbewahrter Milch beruhen, schenkten wir bei unseren Untersuchungen den Geruchsprüfungen eine besondere Aufmerksamkeit. Das stellte etwelche Anforderungen an die Feinheit des Geruchssinnes. Denn es kam vor allem darauf an, schon die geringsten Veränderungen des Milchgeruches festzustellen.

Für die Geruchsprüfungen wurde immer eine besondere Probe reserviert, die wir für die kulturellen Untersuchungen aus naheliegenden Gründen nie verwendeten. Auch war es notwendig, die Flaschen mit einem Glasstöpsel oder einem mit Paraffin abgedichteten Glasdeckel zu verschliessen. Gummistopfen waren wegen des ihnen anhaftenden Geruches ungeeignet.

## A. Geruchsprüfungen.

### 1. Klassifizierung der Gerüche.

#### a) Literaturübersicht.

Nach Untersuchungen von *Roadhouse* und *Koestler*<sup>26)</sup> und anderen weist die normale von aussen unbeeinflusste frische Milch einen natürlichen typischen Geschmack auf. Dagegen wurde solche Milch als geruchlos befunden. Der Geruch der Milch wird als eine sekundäre Erscheinung bezeichnet, die erst durch Aufnahme von Fremdgerüchen zustande kommt. Im Gegensatz zum Geschmack der Milch, der nach den genannten Autoren hauptsächlich durch das Chlor-Milchzucker-Verhältnis bedingt wird, sollen das Fett und das Kasein die Geruchsstoffe binden. Demzufolge wird der unter gewöhnlichen Verhältnissen gewonnenen Milch immer ein mehr oder weniger starker Geruch anhaften, zum mindesten der «arteigene». Dieser röhrt von Ausdünstungen der betreffenden Tiergattung her und ermöglicht z. B. Kuh- und Ziegenmilch schon auf Grund des Geruches zu unterscheiden.

*Burri* und *Düggeli*<sup>27)</sup> untersuchten nach Limburger Käse und Schabzieger riechende Milch und solche, die einen ausgesprochenen «Hundsgeruch» aufwies. Alle drei Fehler wurden durch Bakterien hervorgerufen. Stallgeruch kann nach *Weigmann*<sup>28)</sup> durch *Coli-aerogenes*-Bakterien, nach *Sadler*<sup>29)</sup> durch einen Vertreter von *aerobacter oxytoccum* verursacht werden. Der Steckrübengeruch wird, wie *Weigmann* und *Wolff*<sup>30)</sup> feststellten, durch *Bact. coli* und *fluorescens* erzeugt. Das letztere kann auch Träger eines angenehmen erdbeerartigen Geruches sein. Die Geruchsstoffe wurden teils durch die Bakterien erzeugt, teils durch diese in gewissem Sinne übertragen. Ein Geruch nach tierischen Eingeweiden wurde in einem Falle durch ein alkalibildendes Kurzstäbchen und *Bact. fluorescens* gebildet. In einem andern Falle wurde eine Mischflora von einem alkalibildenden Kurzstäbchen, von *Bact. Zopfii*, einem verflüssigenden Stäbchen und von *Coli*-Bakterien gefunden.

Nach *Kelly*<sup>31)</sup> wird der Karamell- und nach *Hammer*<sup>32)</sup> der Malzgeruch durch gewisse Varietäten des *Strept. lactis* hervorgerufen. *Baumann*<sup>33)</sup> isolierte auch aus Kuhkot Streptokokken (*faecium* und *bovis*), die in Milch ebenfalls einen Malzgeruch erzeugten. Diesen vermögen nach *Tracy* und *Ramsey*<sup>34)</sup> auch Mikrokokken vom *Aureus*-Typus zu produzieren.

Ein ausgesprochen ranziger Geruch verdankte seine Entstehung, wie *Koestler* und seine Mitarbeiter<sup>35)</sup> gezeigt haben, einer Lipase. Sie soll aber vermutlich nicht mikrobiologischen Ursprungs sein.

In neuester Zeit befassen sich zahlreiche Arbeiten von *Kende*, *Kertész*, *W. Ritter*<sup>36</sup>, <sup>37, 38)</sup> und anderen mit der Erforschung der durch chemische Einflüsse verursachten Geruchsveränderungen in Milch und Rahm. Es handelt sich hier hauptsächlich um eine ungünstige Beeinflussung des Milchfettes durch Metalle, vor allem Kupfer und Eisen. Diese lösen sich in sehr geringer Menge in der Milch auf und wirken dann als Katalysatoren bei der Oxydation des Milchfettes, wobei ein ölig-talgiger Geruch und Geschmack hervorgerufen wird. Der Fehler wurde vor allem bei dauerpasteurisierter Milch und bei niedrigen Temperaturen festgestellt.

*Pien* und *Herrschdörfer*<sup>39)</sup> geben auf Grund von Literaturstudien eine Uebersicht über die Geruchs- und Geschmacksfehler der Milch. Sie unterscheiden einen Kuh-, Stall-, Futter-, Seifen-, Fisch-, Metall-, Karton-, Senf-, Kohl-, Schimmel-, Karamell- und Malzgeruch, ferner ranzige und brenzlige Gerüche. Nach ihrer Entstehung klassifiziert, werden sie eingeteilt in solche, die die Milch aus der Umgebung aufnimmt (Futtermittel usw.) und solche, die durch Veränderung von Milchbestandteilen entstehen. Dabei handelt es sich entweder um chemische oder bakteriologische Einflüsse. Die von aussen aufgenommenen Gerüche lassen sich durch Hochpasteurisation mit nachfolgender Entlüftung entfernen. Alle andern Geruchs- und Geschmacksfehler können meist nicht mehr behoben werden.

#### b) Eigene Untersuchungen.

Bei jeder rohen Milch treten, wenn man sie lange genug aufbewahrt, mehr oder weniger unangenehme Gerüche auf. Daran lässt sich meist das Alter erkennen. Je stärker eine aufbewahrte Milch riecht, um so tiefgreifendere Zersetzungsvorgänge haben sich im allgemeinen in ihr abgespielt.

Für unsere Untersuchungen kam es vor allem darauf an, diese Vorgänge möglichst frühzeitig zu erfassen. Es galt, schon das erste Auftreten der Gerüche in einem Zeitpunkt festzustellen, da die Milchbestandteile noch nicht deutlich nachweisbar verändert waren. Diese Aufgabe fällt in der

Molkerei dem «Milchschmecker» zu, der bei der Milchannahme auf Grund der Geruchsprüfung die in bezug auf Haltbarkeit gefährdete oder «erstickte» Milch auszuschalten hat.

Die zahlreichen Untersuchungen, die bisher über die Entstehung der Milchgerüche ausgeführt worden sind, befassen sich hauptsächlich mit solchen, die mehr sporadisch und besonders auffällig auftraten. Die geruchlichen Veränderungen dagegen, die sozusagen bei jeder Milch früher oder später festgestellt werden können, sind unseres Wissens weniger berücksichtigt worden.

In Anlehnung an die Verhältnisse der Praxis wählten wir für unsere Untersuchungen in den meisten Fällen eine Aufbewahrungstemperatur von 18—20°. Das ist die Temperatur, bei der die Milch im Haushalt häufig gehalten wird und wie man sie im Sommer bei mangelnder Abkühlung vielfach beobachtet. Bei jener Wärme trifft man auch am meisten «erstickte» Milch.

Die Geruchsprüfungen wurden 8—10 Stunden nach dem Abfüllen der Proben alle 1—2 Stunden vorgenommen. Dabei suchten wir die über der Milch sich ansammelnden Geruchsstoffe festzustellen. Die Milch selbst blieb unberührt, d. h. sie wurde nicht geschüttelt. Die Aufzeichnungen machten wir immer erst dann, wenn ein Geruch deutlich wahrgenommen werden konnte. Auf zu geringe und damit unsicher feststellbare Veränderungen durften wir nicht abstellen.

Wie bei den Geschmacks-, so ist es auch bei den Geruchsprüfungen nicht immer leicht möglich, einen gewissen suggestiven Einfluss auszuschalten, wodurch ein objektives Urteil in Frage gestellt wird. Wir haben daher unsere Feststellungen öfters durch unbeteiligte Personen kontrollieren lassen.

Die Gerüche traten immer zuerst bei den verschlossenen Proben auf, während die gleiche Milch in den offenen Flaschen oft noch längere Zeit geruchlos blieb. Wenigstens anfänglich schien die Bildung von Geruchsstoffen nur an die Rahmoberfläche gebunden zu sein. Nach gründlichem Durchmischen der Milch konnten sie häufig nicht mehr wahrgenommen werden.

Wir haben versucht, die Ergebnisse unserer zahlreichen Geruchsprüfungen zu klassifizieren. Dies war jedoch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden. Denn einmal ist die Zahl der durch unsern Geruchssinn unterscheidbaren Gerüche ausserordentlich gross, was einem erst recht bewusst wird, wenn man sich eingehender mit solchen Prüfungen befasst. Außerdem konnten wir bei unsern Versuchen nur selten deutlich einheitliche Gerüche feststellen. In den meisten Fällen waren es mehr oder weniger ausgeprägte Mischungen verschiedener Gerüche. Oft trat die Vereinigung der einzelnen Bestandteile eines Mischgeruches nicht ein, und es konnte dann abwechslungsweise der eine oder andere Geruch wahrgenommen werden.

Als besonders nachteilig muss es empfunden werden, dass wir für die Gerüche keine bestimmten Bezeichnungen besitzen. Wir sind darauf angewiesen, einen Geruch im Vergleich zu demjenigen eines bekannten Stoffes zu benennen. Für Geruchsempfindungen, die denjenigen des Geschmackes ähnlich sind, findet man vielfach die Geschmacksbezeichnung entlehnt, so für säuerlich und herb.

Wurden die Geruchsprüfungen bei einer grössern Anzahl von Proben durchgeführt, so wirkten die betreffenden Gerüche plötzlich nicht mehr auf unser Organ ein. Aehnlich verhielt es sich, wenn wir uns bemühten, den Mischgeruch einer Probe zu analysieren. Anfänglich schienen bestimmte Geruchsstoffe vorzuherrschen, die dann plötzlich verschwanden und andern Platz machten. Dies beruht nach *Zuntz* und *Læwy*<sup>40)</sup> darauf, dass unser Geruchssinn sehr leicht ermüdbar ist.

Die bei unsren Untersuchungen festgestellten Gerüche lassen sich zunächst in zwei Gruppen einteilen: *einheitliche Gerüche* und *Mischgerüche*.

Zur ersten Gruppe rechnen wir alle leicht zu definierenden Gerüche, wie Steckrüben-, Malz- und Karamelgeruch, ferner die aromatischen Estergerüche (nach Erdbeeren usw.).

Die meisten Gerüche, die wir bei aufbewahrter Milch wahrnehmen konnten, gehören der zweiten Gruppe an. Es waren entweder ausgesprochene Mischgerüche oder aber solche, bei denen entweder eine oder abwechslungsweise die eine oder andere Komponente vorherrschte. Zu den ersten zählen wir die muffigen, die säuerlichen, die an Waschlappen erinnernden und die auffallend übeln Gerüche; zu den zweiten die herben bis herb-säuerlichen, die vorwiegend ranzigen und die futterig-sauren Gerüche. Der am meisten aufgetretene säuerliche Geruch war nicht rein sauer, wie man ihn z. B. bei durch Reinkulturen von Milchsäurebakterien gesäuerter Milch empfindet. Er war deutlich unrein säuerlich, somit ein Mischgeruch.

Der futterig-saure Geruch erinnert an Sauerfutter. Wir bezeichnen ihn auch als adstringierend, weil er auf den Nasenschleimhäuten eine zusammenziehende Empfindung auslöst. Der Geruch ist oft auch stechend sauer. Dann sind fast immer an Essigsäure erinnernde Riechstoffe vorherrschend.

Ein typischer Mischgeruch ist der sogenannte Waschlappengeruch, der häufig festgestellt werden konnte. Man kennt ihn in der Praxis meist unter der Bezeichnung «waschhüdele». Es ist ein unangenehmer schwer zu beschreibender, oft auch schwach säuerlicher Geruch, wie man ihn bei Waschlappen wahrnimmt, die zum Reinigen von Milch- und Essgeschirr verwendet und nachher mangelhaft ausgewaschen worden sind.

Vorwiegend ranzige Gerüche waren immer nur in verhältnismässig geringem Masse spürbar, sodass man nie von eigentlich ranziger Milch hätte sprechen können. Jene Gerüche gingen schon nach wenigen Stunden meist in mehr futterig-saure Gerüche über.

Die anfänglich aufgetretenen Gerüche konnten nur selten längere Zeit unverändert wahrgenommen werden. Oft schon nach wenigen Stunden waren

sie ganz anderer Art. Meist trat dann ein scharf saurer adstringierender Geruch hervor. So folgte auf den anfänglich typischen Steckrübengeruch ein schwach säuerlicher, auf den an Waschlappen erinnernden ein schwach ranziger, meist aber ein futterig-saurer bis essigsaurer Geruch. Auch aromatische Gerüche gingen meist recht bald in mehr saure über. Der anfänglich futterig-saure Geruch wurde dann und wann durch üble, an saures Schweinefutter erinnernde Gerüche abgelöst. Die zuerst vorwiegend ranzigen Gerüche konnten auch in aromatische, erdbeerb- und obstartige übergehen.

Die bei 60 genauer untersuchten Milchproben festgestellten Gerüche sind in Tabelle 1 nach Gruppen geordnet zusammengestellt:

*Tabelle 1.*

*I. Einheitliche Gerüche.*

1. Aromatische Gerüche (nach Obsttrester und Erdbeeren) . . . . .	6,8 %
2. Malzgeruch . . . . .	5,1 %
3. Karamelergeruch . . . . .	1,7 %
4. Steckrübengeruch . . . . .	5,1 %

*II. Mischgerüche.*

*a) Mit einer vorherrschenden Komponente:*

1. Herb-säuerlich . . . . .	11,9 %
2. Vorwiegend ranzig . . . . .	10,2 %
3. Futterig-sauer, adstringierend . . . . .	6,8 %

*b) Ausgesprochene Mischgerüche:*

1. Muffig . . . . .	3,4 %
2. Säuerlich . . . . .	24,5 %
3. Waschlappengeruch . . . . .	19,4 %
4. Säuerlich-faulig (nach Schweinefutter, käsig-säuerlich) . . . . .	5,1 %

Am meisten vertreten sind die vorwiegend säuerlichen Mischgerüche. Sie wurden bei der Mehrzahl der untersuchten Proben festgestellt. Die säuerlichen Gerüche sind nach der am meisten verbreiteten Auffassung ein Merkmal der «erstickten» Milch.

Die geruchliche Veränderung der Milch war nicht immer von einer Aenderung des Geschmackes begleitet. Wir legten zwar das Hauptgewicht auf die Geruchsprüfungen. Aber in all den Fällen, da wir auch eine geschmackliche Prüfung vornahmen, konnten wir zur Zeit des ersten Auftretens der Gerüche eine Aenderung im Geschmack nie feststellen. Das ist auch verständlich. Denn unser Geruchssinn ist weit empfindlicher als der Geschmackssinn. Nach Angaben in dem bereits zitierten Lehrbuch von Zuntz und Löwy sollen z. B. zur Erzeugung einer deutlichen Geruchsempfindung bei Orange-Essenz  $5 \cdot 10^{-5}$  bis  $1 \cdot 10^{-3}$  mg im Liter Luft nötig sein. Um aber eine Flüssigkeit als süß zu empfinden, muss sie wenigstens 0,49 % Zucker enthalten.

*2. Beziehung zwischen Geruch und Säuregrad.*

Unter dem Säuregrad der Milch versteht man ihr Vermögen, Basen zu binden. Er wird meist nach Soxhlet Henkel gemessen, indem man feststellt, wieviel  $\text{cm}^3 \frac{n}{4}$ -Lauge zur Neutralisation von 100  $\text{cm}^3$  Milch notwendig sind. Das ist der potentielle Säuregrad im Gegensatz zum aktuellen, der ein Mass für die durch die Milchsäuregärung entstandene Milchsäure

in der dissoziierten Form, zusätzlich des schon vor der Milchsäurebildung vorhandenen dissoziierten Wasserstoffs, darstellt.

Die frische Milch besitzt einen natürlichen Säuregrad, bedingt durch die an das Kasein gebundenen Phosphate. Er schwankt nach *Fleischmann*<sup>41)</sup> im Durchschnitt zwischen 6,4 und 7,6. In geringem Masse ist am Säuregrad der frischen Milch auch deren Kohlensäuregehalt beteiligt. Dieser beträgt, auch wieder nach *Fleischmann*, pro 100 cm<sup>3</sup> Milch 6 cm<sup>3</sup>, was 1,04 cm<sup>3</sup>  $\frac{n}{4}$ -Lauge entspricht. Durch das Verdunsten der Kohlensäure, das beim Aufstellen der Milch in niedrigen Schichten oder durch das Entlüften begünstigt wird, geht somit der anfängliche Säuregrad während den ersten Stunden etwas zurück. *Tillmanns* und *Luckenbach*<sup>42)</sup> fanden, dass er um 0,2 bis 0,3 Grad abnimmt, wenn die Milch in dünner Schicht über einen Kühler fliesst.

Nach einer gewissen Aufbewahrungszeit steigt jedoch der Säuregrad der Milch. Von jetzt ab steht er, wie schon *Koning*<sup>2)</sup> feststellte, in Beziehung zur Entwicklung der Milchsäurebakterien. Die Zunahme erfolgt aber erst dann, wenn sich diese schon in beträchtlichem Masse vermehrt haben. Bei 9 Säuregraden spricht man nach *Wolff*<sup>10)</sup> von einer schwachen Säuerung. Bei einem Säuregrad von 10—11 gerinnt die Milch beim Kochen.

Mittels der Geruchsprobe lassen sich nur die flüchtigen Spaltprodukte der Bakterien feststellen. Die Milchsäure dagegen ist als nicht flüchtig durch den Geruchssinn nicht wahrnehmbar. Außerdem soll sie sich nach Untersuchungen von *Tillmanns* und *Luckenbach*<sup>42)</sup> bei den Säuregraden 6—10 in der Milch fast ausschliesslich als Salz vorfinden.

Es galt daher zu untersuchen, inwieweit ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten flüchtiger Stoffe und der Säurezunahme in der Milch bestehe. Damit war auch die Frage beantwortet, ob die in aufbewahrter Milch entstehenden Gerüche schon vor einer messbaren Säurezunahme wahrgenommen werden können oder ob sie erst durch diese bedingt werden.

Die Bestimmung des Säuregrades erfolgte mit  $\frac{n}{10}$ -Lauge und wurde immer dann vorgenommen, wenn die Milch die ersten deutlich wahrnehmbaren Geruchsveränderungen aufwies. Die diesbezüglichen Untersuchungsergebnisse sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Von 26 Proben wiesen 24 neben einer Geruchsveränderung eine geringe bis stärkere Erhöhung des Säuregrades auf. Nur bei 2 Proben hatte er sich trotz des Geruches nicht verändert. Von den 8 geruchlich unveränderten Proben war bei fünf auch der Säuregrad konstant geblieben, während bei dreien ein leichtes Ansteigen desselben festgestellt werden konnte.

Hinsichtlich der geringen Zunahme von 0,2—0,3 Säuregraden ist hervorzuheben, dass bei der Titration von Milch der Farbumschlag des Indikators nicht so leicht erkennbar ist wie in klaren Flüssigkeiten. Ein Tropfen  $\frac{n}{10}$ -Lauge mehr oder weniger vermag in den verwendeten 10 cm<sup>3</sup> Milch keinen deutlich erkennbaren Unterschied in der Farbe des Indikators zu erzeugen. Ein Tropfen  $\frac{n}{10}$ -Lauge entspricht aber 0,2 Säuregraden. Solche Unterschiede in den Untersuchungsergebnissen können daher leicht innerhalb der Versuchsfehlergrenze liegen.

Auch die höheren Säuregrade können zum Teil durch nicht zu umgehende Versuchsfehler beeinflusst worden sein. Um möglichst das erste deutliche Auftreten eines Geruches zu erkennen, war es notwendig, die Proben wenigstens alle Stunden abzudecken. Dabei konnten sich geringe, aber noch nicht wahrnehmbare Mengen von Riechstoffen immer wieder verflüchtigen. Es war daher wohl möglich, dass in einzelnen Fällen ein Geruch etwas später verspürt werden konnte, als wenn die Probe bis zum richtigen Zeitpunkt ununterbrochen verschlossen gewesen wäre. Es ist aber auch ohne weiteres denkbar, dass bei einzelnen Proben in geringerem Masse leicht flüchtige Stoffe gebildet worden sind, sodass es

Tabelle 2.

Herkunft der Milch	Deutliche Geruchs- ver- änderung nach Stunden	Bezeichnung der Gerüche	Säuregrad		
			Frische Milch	Bei der Ge- ruchsver- änderung	Zu- nahme
Sch., Bern . . . . L.M.	24	Keine Änderung	5,7	5,7	—
Sch., Münchenbuchsee	16	» »	6,4	6,4	—
S., Hinterkappelen . . .	19	» »	6,0	6,0	—
H., Schönbühl . . . .	22	» »	6,3	6,3	—
B., Kehrsatz . . . .	22	» »	6,3	6,8	0,5
Mettlen . . . . K.M.	23	» »	6,2	6,4	0,2
G., Schönbühl . . . . L.M.	23	« »	6,0	6,4	0,4
N., Burgistein . . . .	12	» »	6,9	6,9	—
Rubigen . . . . K.M.	18	Estergeruch	6,4	6,6	0,2
Oberdettigen . . . .	17	Malzgeruch	6,1	6,4	0,3
N., Bern . . . . L.M.	22	Schwach herb-säuerlich	6,0	6,2	0,2
N., Bern . . . .	22	Herb-säuerlich	6,6	6,9	0,3
G., Schönbühl . . . .	24	»	6,3	7,4	1,1
B., Köniz . . . .	24	Ranzig-säuerlich	6,3	7,4	1,1
W., Hindelbank . . . .	12	«	6,5	8,0	1,5
Münchenbuchsee . . . K.M.	19	Futterig-sauer	6,4	7,8	1,4
Blumenstein . . . .	23	» adstringier.	6,0	7,6	1,6
Hasle . . . . .	19	»	6,5	6,7	0,2
Thörishaus . . . .	12	»	6,2	6,8	0,6
G., Bern . . . . L.M.	12	Muffig	6,5	7,0	0,5
K., Aetzikofen . . . .	24	Säuerlich, schwach obstartig	6,8	8,0	1,2
W., Hindelbank . . . .	22	Säuerlich-muffig	5,6	7,4	1,8
G., Schönbühl . . . .	22	»	5,6	6,8	1,2
D., Hindelbank . . . .	22	Säuerlich	5,9	7,6	1,7
G., Schönbühl . . . .	22	Schwach säuerlich	6,5	6,8	0,3
Burgiwil . . . . K.M.	23	Säuerlich	6,4	7,2	0,8
U., Bern . . . . .	24	»	6,0	6,4	0,4
G., Bern . . . . L.M.	24	»	6,5	7,5	1,0
G., Herrenschwanden .	24	Waschlappengeruch	6,4	7,3	0,9
S., Hinterkappelen . . .	28	»	6,0	6,9	0,9
Grossbösigen . . . . K.M.	12	»	6,3	6,3	—
Thörishaus . . . .	14	«	6,0	6,2	0,2
H., Trimstein . . . . L.M.	22	Käsig-säuerlich, adstringier.	6,2	7,7	1,5
Ballmoos . . . . K.M.	20	Gärig-säuerlich, sehr unangenehm	6,0	6,0	—

L.M. = Lieferantenmilch. K.M. = Käseriemilch.

länger dauerte, bis sie wahrgenommen werden konnten. Infolgedessen nahm wegen starker Entwicklung der Milchsäurebakterien auch der Milchsäuregehalt zu.

Keine der verschiedenen Geruchskategorien ist einheitlich von einer besonders geringen Erhöhung des Säuregrades begleitet. Bei allen Kategorien waren sowohl geringe bis stärkere Säurezunahmen zu verzeichnen.

Aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen kann wohl in erster Linie der Schluss gezogen werden, dass wenn bei aufbewahrter Milch Ge-

rüche auftreten, der Säuregrad eher schon in geringem Masse zugenommen hat. Die Milchsäurebakterien müssen sich also schon ziemlich stark vermehrt haben.

Es ist aber auch möglich, mit Hilfe des Geruchssinns in aufbewahrter Milch Zersetzungsvorgänge aufzudecken, die durch die Bestimmung des Säuregrades kaum oder nur unsicher erkannt werden. Die Geruchsprüfung scheint daher durchaus ein geeignetes Hilfsmittel zu sein, bis zu einem gewissen Grade das Alter der Milch zu beurteilen. Auf alle Fälle deuten auftretende Gerüche darauf hin, dass sich in der Milch schon merkliche Umsetzungen vollzogen haben oder vollziehen.

Es sei aber ausdrücklich hervorgehoben, dass diese Ergebnisse nur bei verschlossen aufbewahrter Milch erzielt worden sind. Für die in ungedeckten Gefäßen aufgestellte Milch liegen die Verhältnisse insofern anders, als sich hier die Geruchsstoffe verflüchtigen und infolgedessen erst später, wenn sie in vermehrtem Masse produziert werden, wahrgenommen werden können. Ob sich hier die Zersetzung überhaupt in anderer Weise vollziehen, werden die bakteriologischen Untersuchungen zeigen.

### 3. Das «Ersticken», ein bakteriologischer Vorgang.

Wir haben bei der Erörterung über das «Ersticken» einer organischen Substanz im allgemeinen gezeigt, dass das «Ersticken» der Milch in erster Linie als eine während der Aufbewahrung unter Luftabschluss auftretende, meist unangenehme Geruchsveränderung aufzufassen sei. Aus dem Abschnitt über Geruchsprüfungen geht weiter hervor, dass «erstickte» Milch meistens einen etwas erhöhten Säuregrad aufweist.

Es wurde schon früher angedeutet, dass beim «Ersticken» der Milch entweder enzymatische oder bakterielle Einflüsse in Frage kommen müssen. In der Milch sind eine Reihe von Enzymen festgestellt worden, von denen jedoch nur die Lipase geruchlich ungünstig zu wirken vermag. Unter ihrem Einfluss kann Milch nach Untersuchungen von *Koestler* und seinen Mitarbeitern<sup>35)</sup> schon wenige Stunden nach dem Melken deutlich ranzig werden. Auch scheinen die Voraussetzungen zur Sekretion lipolytisch aktiver Milch (infolge innersekretorischer Störungen und durch lipaseabscheidende Euterbakterien) nicht so selten zu sein. Es ist daher gar nicht ausgeschlossen, dass auch in unsren Versuchen bei der Entstehung von Gerüchen in vereinzelten Fällen solche Milch mitbeteiligt war. Dagegen konnte bis heute nicht mit Sicherheit festgestellt werden, ob auch normale Milch Lipase enthalte.

Ein einfaches Experiment zeigte uns, dass in allen näher untersuchten Fällen die nach einer gewissen Zeit bei aufbewahrter Milch auftretenden Gerüche nur durch Bakterientätigkeit verursacht worden sind.

Wir füllten gewöhnliche Marktmilch zu je 3 dl in 3 sterile weithalsige und mit Glasstöpseln versehene Flaschen. Probe Nr. 1 blieb unbehandelt, Probe 2 wurde pasteurisiert und Nr. 3 mit 5 Tropfen Formalin versetzt. Die Aufbewahrungstemperatur betrug 18—20°.

Vom Desinfektionsmittel musste vor allem verlangt werden, dass es bei der wirksamen Konzentration in der Milch keine störenden Gerüche erzeuge. Hiefür eignete sich das Formalin.

Die Ergebnisse der Geruchsprüfungen sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3.

Nach Stunden	Probe 1	Probe 2 (pasteurisiert)	Probe 3 (formalinisiert)
14	schwacher an Waschlappen erinnernder Geruch	geruchlos	geruchlos; zeitweise schwaches nusskernartiges Aroma
24	stechend säuerl. bis ranzig	geruchlos	unverändert
36	geronnen	geruchlos	unverändert
72	—	schwacher an Waschlappen erinnernder Geruch	unverändert
86	—	geronnen	schwacher, unbestimmbarer Geruch

Diese einfachen Versuche, die wir häufig durchführten, zeigen deutlich, dass das «Ersticken» der Milch ein bakteriologischer Vorgang ist. Dafür spricht nicht nur das Ausbleiben der Geruchsveränderungen bei der mit Formalin versetzten Milch, sondern auch das nachträgliche Auftreten eines an Waschlappen erinnernden Geruches in der pasteurisierten Milch. Hier haben sich die am Leben gebliebenen wärmeresistenten Keime vermehrt und dabei flüchtige Zersetzungprodukte gebildet. Die Enzyme der Milch waren wohl durch den geringen Formalinzusatz kaum gestört worden.

Den eindeutigsten Beweis aber vermochten die Versuche mit aseptisch gewonnener Milch zu liefern. Diese Milch blieb zufolge des geringen anfänglichen Keimgehaltes tagelang geruchlos und erst später, nachdem sich die Bakterien in genügendem Masse vermehrt hatten, fing auch diese an zu riechen, bevor weitere wahrnehmbare Veränderungen festgestellt werden konnten.

Dass der Anfangskeimgehalt beim «Ersticken» der Milch eine Rolle zu spielen vermag, geht aus folgenden Zahlen hervor:

Tabelle 4.

Anfangskeimgehalt	Erste deutliche Geruchsveränderung nach:	Zunahme des Säuregrades
Probe 1: 22 000	18 Stunden: aromatisch-säuerlich	0,2
» 2: 39 000	20 » : schwach säuerlich	0,0
» 3: 16 000	25 » : säuerlich	0,2
» 4: 160 000	12 » : Waschlappengeruch	0,0
» 5: 26 200	27 » : futterig-säuerlich	0,6

Demnach hat die Milch mit besonders hohem Keimgehalt die eingetretene Zersetzung auch besonders früh durch den Geruch erkennen lassen.

## B. Der Einfluss der Aufbewahrungsart auf die Keimverhältnisse.

### 1. Arbeitsverfahren.

**Aufbewahrungsgefäße:** Als solche benützten wir, um die praktischen Verhältnisse möglichst nachzuahmen, zylinderförmige Gläser (Standzylinder), weithalsige Milchflaschen (2—5 dl fassend) und entsprechende Glasschalen (Esmarchschalen u. a.).

Die Gefäße wurden mit Gummistopfen oder mit Glasschalen, die durch Paraffin abgedichtet waren, luftdicht verschlossen. *Kürsteiner*<sup>43)</sup> hat zwar gezeigt, dass Paraffin den Sauerstoff nicht vollkommen fernhält. Die minime Durchlässigkeit dieses Abschlusses konnte jedoch in unsren Versuchen vernachlässigt werden. Um bei der offen aufbewahrten Milch eine Luftinfektion zu verhüten, bedeckten wir die Gefäße leicht mit steriler Watte oder, brachten 2—3 cm über der Mündung eine Petrischale an. So war ein Gasaustausch möglich.

Zur Aufbewahrung der Milch unter anaerobem Verschluss bedienten wir uns des von *Dorner* und *Ritter*<sup>44)</sup> abgeänderten Verfahrens. Dabei stellten wir im Luftraum über der Milch mittels einer Glasröhre eine Verbindung mit einem 50 cm<sup>3</sup> fassenden Kölben her, in das Watte und die notwendige Menge Pyrogallol und Sodalösung gebracht wurde.

*Probenentnahme*: Die frisch gemolkene Milch (Gemelk von 3—4 Kühen) entnahmen wir dem Transportgefäß und füllten sie unverzüglich und unter möglichster Vermeidung von Gasverlusten in die bereitstehenden sterilen Flaschen ab, die sofort verschlossen wurden.

Die Marktmilch, die wir entweder den Transportgefäßen eines einzelnen Lieferanten oder einer Käserei entnahmen, wurde in bestimmtem Quantum in ein steriles Sammelgefäß verbracht und nach Ankunft im Laboratorium in die verschiedenen Aufbewahrungsgefässe verteilt.

*Aufbewahrungstemperatur*: Wir haben schon früher erwähnt, dass die Versuchsmilch meistens bei 18 bis 20° aufbewahrt worden war. Mitunter wurden zum Vergleiche auch Versuche bei 15° angestellt. Es mag noch erwähnt werden, dass die Proben jeweilen im Wasserbade auf die vorgesehene Aufbewahrungstemperatur gebracht worden sind.

*Dauer der Aufbewahrung*: Vorerst wurde in einer Reihe von Versuchen die bei Zimmertemperatur aufbewahrte Milch nach 12 und 24 Stunden untersucht. Daneben mussten gelegentlich je nach Umständen auch andere Zeitabstände gewählt werden. Vielfach wurden, um ein möglichst lückenloses Bild von der Veränderung der Bakterienflora bis zum deutlichen Sauerwerden der Milch zu erhalten, Kulturen in Intervallen von 3—4 Stunden angelegt. Dabei war es naturgemäß notwendig, für jeden vorgesehenen Zeitpunkt eine besondere Probe bereitzuhalten. Im übrigen aber waren in erster Linie die geruchlichen Veränderungen für die Vornahme der bakteriologischen Untersuchung massgebend.

*Entlüften der Milch*: Wie aus der Literaturübersicht hervorgeht, soll die Milch durch das Lüften von ihr anhaftenden Gerüchen und den Milchgasen befreit werden. Zu diesem Zwecke konstruierten wir einen Apparat, wie er in nebenstehender Skizze dargestellt ist. Die zu entlüftende Milch wurde durch einen Trichter in ein Gefäß mit fein durchlöchertem Boden gegossen. Dann floss sie in feinen Strahlen durch ein 6 cm weites, 60 cm langes Glasrohr und wurde unten durch eine trichterförmige Verengung in einen Kolben geleitet. Um eine möglichst gründliche Lufterneuerung zu erzielen, wurde die Luft aus dem Kolben ständig abgesogen. Die Frischluft strömte am oberen Teil des senkrechten Rohres durch eine Anzahl mit Watte verschlossener Löcher ein. Eine Luftinfektion konnte somit nirgends stattfinden. Anfänglich benützten wir eine Vorrichtung, bei der die Milch in feinen Strahlen auf die Innenwand eines grossen Erlenmeyerkolbens verteilt wurde und nachher in dünner Schicht hinunterfloss. Die so gelüftete Milch füllten wir dann in die Aufbewahrungsgefässe ab.

*Ständige Lufterneuerung* über, bzw. in der Milch. Dabei wurde die in den verschlossenen Flaschen über der Milch befindliche Luft während der ganzen Aufbewahrungszeit abgesogen. Um ein Austrocknen der Rahmschicht möglichst zu vermeiden, leiteten wir die in einer Glasröhre zuströmende Luft durch Wasser. An verschiedenen Stellen der Rohrleitung waren Wattepfropfen angebracht, die das Eindringen von Luftkeimen verhinderten. In einzelnen Versuchen wurde die Milch auch unter Luft aufbewahrt, die mittels Schwefelsäure getrocknet worden war.

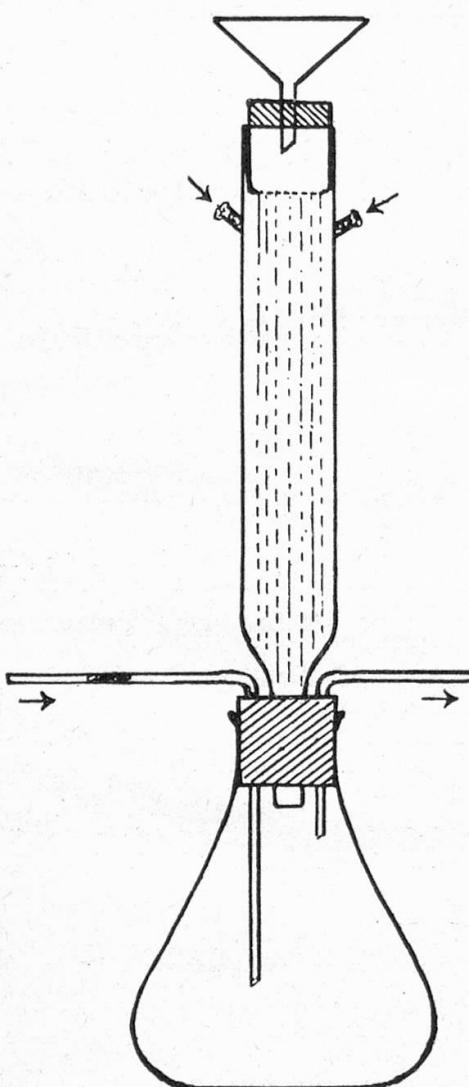


Abbildung 1.

her in dünner Schicht hinunterfloss. Die so gelüftete Milch füllten wir dann in die Aufbewahrungsgefässe ab.

*Aufbewahrung der Milch unter Kohlensäure, bzw. reinem Sauerstoff:* Dies erfolgte in der Weise, dass wir während 10 Minuten durch den über der Milch befindlichen Luftraum aus Druckflaschen Kohlensäure bzw. Sauerstoff leiteten. Nachher wurden die Zu- und Ableitungsschläuche mit Glasstäbchen verschlossen und die Proben bei Zimmertemperatur aufgestellt.

*Absaugen der Rahmschicht:* Um bei aufbewahrter Milch die Rahm- und Magermilchschicht getrennt untersuchen zu können, wurde der Rahm mittels einer Wasserstrahlpumpe unter Vermeidung jeglicher Infektion in sterile Kolben abgesogen. Ein nachträgliches Vermischen der Milchschicht mit den an den Gefässwandungen haftenden Rahmresten wurde dadurch ausgeschaltet, dass wir auch die Magermilch in sterile Gläser abheben.

Zur rein qualitativen Untersuchung der Bakterienflora der Rahmoberfläche wandten wir folgendes Verfahren an: 10 Oesen, die an verschiedenen Stellen entnommen worden waren, wurden nach gründlichem Verreiben an der Glaskröpfchenwand in 10 cm<sup>3</sup> sterilen Wassers aufgeschwemmt und davon Verdünnungen von 1:10 und 1:100 hergestellt. Eine Oese aus den drei Röhrchen lieferte dann, auf Schrägarag ausgestrichen, die passende Verdünnung.

*Bakteriologische Untersuchung der Milch:* Sowohl von der frischen als auch der aufbewahrten Milch wurde die Bakterienflora meistens quantitativ und qualitativ untersucht. Daneben ermittelten wir gewöhnlich auch den Säuregrad und die Entfärbungszeit in der Reduktaseprobe.

Von den bakteriologischen Kulturverfahren verwendeten wir vorwiegend die Agarplattenkultur, sowie den aeroben und anaeroben Reagensglasausstrich nach Burri<sup>45)</sup>. Der gewöhnliche Agar wurde mit Pferdefleischbrühe hergestellt, enthielt 0,5% Pepton Witte und 0,5% Kaseinpepton und wies ein  $p_H$  von 6,8—7,0 auf. Vergleichende Untersuchungen zeigten, dass sich in unserm Falle für das Plattenverfahren der Milchzuckeragar mit dem von Henneberg<sup>46)</sup> empfohlenen Zusatz von Chinablau ebenso gut eignete. Später verwendeten wir diesen Nährboden in vermehrtem Masse. Er hatte den grossen Vorteil, dass die Bestimmung der Kolonien wesentlich erleichtert wurde. Die sich blau färbenden Milchsäurebakterienkolonien konnten rasch von denjenigen der nichtsäurebildenden bzw. alkalibildenden Organismen unterschieden werden. In einer Reihe von Versuchen wurden noch Spezialnährböden verwendet, die an Ort und Stelle beschrieben werden.

Bei Plattenkulturen erschweren die Tiefkolonien im allgemeinen die Uebersicht der Bakterienflora. Als das geeigneter Verfahren hat sich für die qualitative bakteriologische Untersuchung der schon erwähnte Reagensglasausstrich nach Burri erwiesen, weil sich hier nur Oberflächenkolonien entwickeln. Trotzdem arbeiteten wir vorwiegend nach dem Plattenverfahren. Unsere Kulturen wiesen fast immer eine grössere Anzahl rasch wachsender Kolonien auf, die sich auf den Ausstrichen durch das Ueberwuchern kleinerer Kolonien besonders unangenehm bemerkbar machten. Die Ausstrichkulturen hätten daher stets rasch verarbeitet werden müssen. Das war jedoch nicht immer möglich.

Zur Identifizierung der Arten impften wir regelmässig eine grössere Anzahl (mindestens 30) Kolonien eines bestimmten Plattenausschnittes auf Gelatine und Milch ab. Alsdann fasssten wir die Organismen nach ihrem Verhalten auf den beiden Nährböden und den morphologischen Eigenschaften in Gruppen zusammen. Typische Vertreter dieser Gruppen wurden hauptsächlich nach physiologischen Gesichtspunkten weiter untersucht.

Die Untersuchungstechnik wird bei der Erörterung der einzelnen Versuche ausführlich beschrieben.

## 2. Versuche mit frisch gemolkener Milch.

Hier suchten wir die Frage abzuklären, ob die eingeschlossenen Milchgase auf die Keimvermehrung und damit auf die Haltbarkeit der Milch einen Einfluss auszuüben vermögen. Dieser kann einmal darin beruhen, dass jene Gase, die besonders Kohlensäure enthalten, für die Bakterien besondere Wachstumsbedingungen schaffen. Oder aber die Kohlensäure reichert sich in der über der Milch liegenden Luftsicht an, wobei auch den Mikroorganismen an der Rahmoberfläche eine sauerstoffärmere Luft zur Verfügung steht. Diese Ueberlegung mag dazu geführt haben, dass man die Tätigkeit anaerober Bakterien, die in den verschlossenen Gefässen bessere Lebensbedingungen vorfinden, als Ursache des «Erstickens» der Milch vermutete.

Die bei diesen Versuchen durchgeführten bakteriologischen Untersuchungen waren zunächst vorwiegend quantitativer Art. Denn die Verschlechterung der Milchqualität während

der Aufbewahrung beruht in erster Linie auf der Bakterienvermehrung. Zur Ergänzung wurde die Reduktaseprobe ausgeführt und der Säuregrad und die Kochfähigkeit geprüft.

Die Milch haben wir in einigen landwirtschaftlichen Betrieben der Umgebung Berns erhoben.

Um möglichst zu vermeiden, dass die Milch beim Abfüllen mit Luft in Berührung kam, stellten wir den Landwirten jeweils eine Milchkanne zur Verfügung, die am Grunde mit einem Ausflusshahn versehen war. Dieser wurde vorsichtshalber immer sterilisiert, während die Kanne und die übrigen Transportgefässe im betreffenden Betriebe in üblicher Weise gereinigt wurden. Vom Hahn aus führte ein steriles Schlauchstück bis auf den Boden der Probeflächchen, die nach dem Abfüllen sofort mit einem Gummistopfen verschlossen wurden. Bei einigen Versuchen liessen wir diesen weg und stellten die offenen Flaschen unter eine Glasglocke.

Für jede Aufbewahrungsart führten wir entweder parallel oder in zeitlichen Abständen verschiedene Versuche durch, von denen wir hier einen oder, wo es notwendig erschien, mehrere wiedergeben.

#### a) Milch in offenen und verschlossenen Gefässen aufbewahrt.

Für die Versuche 1—3, deren Ergebnisse in Tabelle 5 zusammengefasst sind, verwendeten wir die Mischmilch zweier beliebiger Kühe aus Stall Gs. Die Tiere wurden nur mit Gras gefüttert. Die Milch wies zur Zeit der Probenerhebung eine Temperatur von 32 bis 33° auf. Die Aufbewahrung erfolgte bei 20, zum Teil auch bei 30° und in einer Schichthöhe von 16—18 cm. Die Keimzahl bestimmten wir mittels Oesenausstrich nach Burri auf gewöhnlichem Schrägarag.

Die in Tabelle 5 enthaltenen Zahlen stellen das Mittel aus 3 Röhrchen dar.

Tabelle 5.

Versuch	Bezeichnung und Aufbewahrungstemperatur	Keimzahl	Reduktase	Keimzahl	Reduktase	Säure- grad
		nach 12 Stunden	nach 24 Stunden			
1	Frische M. K.-Z. 68 000 S° 6,5					
	20° Offen . . . . .	180 000	4 1/2 Std.	4 000 000	110 Min.	7,5 n. 24 Std.
	Verschlossen . . .	370 000	3 1/4 »	4 000 000	98 »	8,0 »
	30° Offen . . . . .	12 600 000	20 Min.	geronnen	—	9,0 n. 12 Std.
2	Frische M. K.-Z. 24 500 S° 7,0					
	20° Offen . . . . .	930 000	3 1/4 Std.	28 500 000	56 Min.	7,0 n. 24 Std.
	Verschlossen . . .	1 000 000	3 1/2 »	37 000 000	52 »	7,5 »
	30° Offen . . . . .	9 000 000	73 Min.	geronnen	—	7,0 n. 12 Std.
3	Frische M. K.-Z. 47 000 S° 6,5					
	20° Offen . . . . .	7 000 000	2 Std.	142 000 000	12 Min.	8,5 n. 24 Std.
	Verschlossen . . .	8 800 000	2 1/4 »	85 000 000	17 »	8,0 »

Zunächst fallen die Ergebnisse hinsichtlich der Aufbewahrungstemperatur auf. Sie bestätigen die altbekannte Tatsache, dass das Keimwachstum in der Milch und damit ihre Haltbarkeit in hohem Masse von der Aufbewahrungstemperatur abhängig ist.

Bei der bei 20° aufbewahrten Milch (Versuch 1) schien das Verschliessen einen Einfluss auf die Keimvermehrung und die Reduktionszeit ausgeübt zu haben. Die verschlossene aufbewahrte Milch enthielt doppelt soviel Keime als die offen aufbewahrte. Nach 24 Stunden dagegen bestand kein Unterschied mehr in der Keimzahl. Auch nach dem Säuregrad muss eher auf eine ungünstige Wirkung des Verschliessens geschlossen werden.

Bei 30° liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt. Hier wies die Milch im offenen Gefäß nach 12 Stunden einen höheren Keimgehalt auf.

Zu ähnlichen Ergebnissen führte der zweite Versuch. Auch hier schnitten die verschlossenen Proben etwas schlechter ab. Die bei 30° unter Verschluss gehaltene Milch hatte nach 12 Stunden einen höheren Säuregrad; Keimzahl und Reduktionszeit dagegen scheinen eher zuungunsten der offenen Aufbewahrung zu sprechen.

In Versuch 3 war der Keimgehalt bei der verschlossen und offen aufbewahrten Milch nach 12 Stunden nahezu gleich hoch. Dagegen ergab sich ein Unterschied bei der 24 Stunden alten Probe. Diese besaß im verschlossenen Gefäß einen geringeren Keimgehalt. Die Dauer der Reduktionszeit war etwas erhöht und der Säuregrad etwas niedriger.

Bei der mit Lackmuslösung versetzten Milch begann diejenige im verschlossenen Gefäß nach 25 Stunden aufzuhellen, diejenige im offenen 15 Minuten später. Die Aufhellung vollzog sich ungleichmäßig. Es bildeten sich vorerst vereinzelte hellere Flecken, sodass die ganze Milchschicht ein wolkiges Aussehen annahm. Daraus muss geschlossen werden, dass die Milchsäuregärung an bestimmten Stellen stärker, an andern schwächer vor sich geht. Aber immer setzte die Aufhellung oben ein und schritt nach unten fort. Am längsten blieben die blauen Stellen in den tieferen Milchschichten bestehen.

In den Versuchen 4 und 5 wurde wiederum Milch aus dem Betriebe Gs. verwendet. Die Aufbewahrung erfolgte in offenen Gefäßen unter gewöhnlichem und anaerobem Verschluss. Der Keimgehalt wurde durch Anlegen von Agarplatten-Kulturen und Kulturen in hoher Schicht bestimmt.

Tabelle 6.

Versuch	Bezeichnung und Aufbewahrungstemperatur	Keimzahl		Reduk- tase	Keimzahl		Reduk- tase	Säure- grad
		Agar- Platten	Hohe Schicht		Agar- Platten	Hohe Schicht		
		nach 12 Stunden			nach 24 Stunden			
4	Frische M. K.-Z. 24 700 S° 7,0							
	20° Offen . . . . .	660 000	260 000	2 1/4 Std.	5 600 000	2 600 000	52 Min.	8,0
	Gewöhnlich verschlossen	290 000	400 000	2 1/4 »	6 400 000	2 000 000	32 »	8,0
5	Anaerob »	190 000	140 000	3 »	3 400 000	2 300 000	60 »	8,0
	Frische M. K.-Z. 120 000 S° 7,0							
	20° Offen . . . . .	4 800 000	3 200 000	1 1/2 Std.	590 000 000	64 000 000	7 Min.	15,0
	Gewöhnlich verschlossen	3 600 000	1 200 000	2 1/4 »	500 000 000	82 000 000	7 »	15,0
	Anaerob »	4 000 000	1 200 000	2 »	100 000 000	10 000 000	6 »	14,0

Wie aus obiger Tabelle hervorgeht, hatte die Keimmenge der in Versuch 4 anaerob aufbewahrten Milch sowohl nach den auf Platten- als auch in den Hoheschicht-Kulturen ermittelten Zahlen nach 12 Stunden am wenigsten zugenommen. Dies war nach den auf den Platten gewachsenen Keimen auch bei der 24 Stunden alten Milch der Fall. Die anaerob aufbewahrte Milch wies auch die längste Reduktionszeit auf, während der Säuregrad bei allen 3 Proben gleichmäßig zugenommen hatte.

Etwas anders sind die Ergebnisse der in Versuch 5 untersuchten Milch. Hier ist nach 12 Stunden in der Keimzahl noch kein deutlicher Einfluss der Aufbewahrungsart erkennbar. Die kürzeste Reduktionszeit wurde hier bei der offen aufbewahrten Milch festgestellt. Ausgesprochene Unterschiede hinsichtlich der Keimzahlen wiesen die 24 Stunden alten Proben auf, wobei die unter anaerobem Verschluss gehaltene Milch wiederum am wenigsten Keime enthielt. Der Säuregrad, der allerdings schon beträchtlich zugenommen hatte, war gegenüber demjenigen der offen und verschlossen aufbewahrten Milch etwas niedriger.

*Durch die anaerobe Aufbewahrung wird die Haltbarkeit der Milch somit gar nicht ungünstig beeinflusst. Sie scheint im Gegenteil im Vergleich zu andern Aufbewahrungsmethoden noch etwas besser zu sein.*

Dies lässt sich aus dem geringeren Bakteriengehalt erklären. Die aeroben Bakterien entwickelten sich hier nicht. Sowohl auf den Platten- als auch in den Hoheschicht-Kulturen hatte sich fast ausschliesslich der *Streptococcus lactis* zu Kolonien entwickelt. Auf ihn entfielen in Versuch 4 90%, in Versuch 5 80% der Kolonien, die aus 12 Stunden alter Milch hervorgingen. Bei der offen aufbewahrten Milch bestand die Bakterienflora in Versuch 4 zur Hälfte, in Versuch 5 zu 90% aus Milchsäurestreptokokken, während die auf gewöhnliche Weise verschlossenen Proben der entsprechenden Versuche 75 und 85% der genannten Organismen enthielten. Der Rest bestand vorwiegend aus Kokken.

Die absolute Zahl der Milchsäurebakterien war aber trotzdem in der offen und unter gewöhnlichem Verschluss aufbewahrten Milch bedeutend höher. Die Milchsäurebakterien hatten sich also hier stärker entwickelt als unter dem anaeroben Verschluss. Es müssen somit bei den ersten beiden Aufbewahrungsmethoden Faktoren mitspielen, die das Bakterienwachstum fördern, durch den anaeroben Verschluss aber ausgeschaltet werden. Nur so lässt sich erklären, dass die gewöhnlichen Milchsäurebakterien, die sonst nach allgemeiner Auffassung bei Luftmangel besser gedeihen, sich in der anaerob aufbewahrten Milch etwas langsamer vermehrt haben.

In den Versuchen 6 und 7 wurde die Anordnung in der Weise erweitert, dass zu den bereits besprochenen Aufbewahrungsmethoden noch die Aufstellung der Milch unter einer Glasglocke hinzukam.

Zu Versuch 6 verwendeten wir wieder zylinderförmige Gläser mit 150 cm<sup>3</sup> Milch in einer Schichthöhe von 15 cm. Im 7. Versuch wurde die Milch zu je 1/2 Liter in sogenannten Küssnachter Sterilisierflaschen aufbewahrt. Die frische Milch enthielt im ersten Falle 174 000 und im zweiten 11 900 Keime pro cm<sup>3</sup>.

Nach 12 Stunden konnte nach dem Abheben der Glocke ein muffiger Geruch wahrgenommen werden. Die weiteren Untersuchungsergebnisse sind aus Tabelle 7 ersichtlich.

Vergleichen wir die Resultate der drei verschiedenen Aufbewahrungsmethoden von Versuch 6, so ergeben sich bei der 12 Stunden alten Milch nur ganz unwesentliche Unterschiede. Auffallender sind diese nach 36 Stunden. Während sich die offen und verschlossen aufbewahrten Proben ungefähr gleich verhielten, enthielt die unter der Glasglocke gestandene Milch wesentlich mehr Keime, besass eine kürzere Reduktionszeit und einen höheren Säuregrad.

Der Versuch 7 führte zu ähnlichen, aber etwas weniger eindeutigen Ergebnissen.

Tabelle 7.

Versuch	Bezeichnung	Keimzahl	Reduktase	Keimzahl	Reduktase	Säuregrad
6	Frische M. K.-Z. 174 000 S° 6,5		nach 12 Stunden		nach 36 Stunden	
	Offen . . . . .	1 500 000	2 Std.	30 000 000	14 Min.	9,5
	Verschlossen . . . .	1 200 000	1 $\frac{3}{4}$ »	31 000 000	11 »	9,5
7	Unter Glasglocke . . .	1 500 000	2 »	57 000 000	3 »	11,5
	Frische M. K.-Z. 11 900 S° 6,5				nach 27 Stunden	
	Offen . . . . .	850 000	1 $\frac{1}{2}$ Std.	5 700 000	42 Min.	7,2
	Verschlossen . . . .	—	—	9 300 000	35 »	7,6
	Unter Glasglocke . . .	890 000	1 $\frac{1}{4}$ Std.	12 500 000	35 »	7,6

In der qualitativen Zusammensetzung der Bakterienflora machte sich kein Einfluss der einen oder andern Aufbewahrungsart geltend. Man konnte deshalb keine bestimmten Schlüsse ziehen. So setzte sich z. B. in Versuch 6 der Keimgehalt der während 12 Stunden offen aufbewahrten Milch aus rund 90% *Streptococcus lactis* und 10% Kokken, der verschlossen gehaltenen aus 85% *Streptococcus lactis* und 15% Kokken und der unter der Glasglocke gestandenen Milch aus 93% *Streptococcus lactis*, 7% Kokken und wenig Kurzstäbchen zusammen. Nach 36 Stunden waren bei allen drei Proben fast ausschliesslich Milchsäurebakterien nachweisbar.

#### b) Der Einfluss des Lüftens frischgemolkener Milch.

Wie in der Literaturübersicht angeführt wurde, ist die Meinung verbreitet, dass das Entlüften das «Ersticken» der Milch verhüte, weil die Milchgase entweichen. Obwohl man fast allgemein vom Entlüften der Milch spricht, so ist es im Grunde genommen kein Entfernen von Luft, sondern eine Luftzufuhr oder, wie *Burri*<sup>17)</sup> treffend schrieb, ein «Auswaschen der Milch mit Luft». Die Milch wird durch starke Vergrösserung der Oberfläche mit möglichst viel Luft in Berührung gebracht, wobei sie Luft absorbiert. Man bezeichnet daher diesen Vorgang, wie es schon von *Burri* geschehen ist, passender als das «Lüften der Milch».

*Versuch 8.* Die hierzu verwendete frischgemolkene Milch wurde in verschlossenen und offenen Gefässen aufbewahrt, wobei ein Teil der letzteren in der bereits beschriebenen Vorrichtung gelüftet worden war. Als Aufbewahrungsgefässe dienten 3 dl fassende weit-halsige Milchflaschen, in die 2 dl Milch eingefüllt wurden.

Aus einem Vorversuch ergab sich, dass die betreffende Milch keimarm war, weshalb wir für die Untersuchungen Zeitabstände von 12 Stunden wählten.

Die dabei erzielten Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt.

Während der ersten 12 Stunden hatte der Keimgehalt der drei verschiedenen aufbewahrten, bzw. behandelten Proben ziemlich gleichmässig zugenommen. Eine geruchliche Veränderung konnte noch nirgends festgestellt werden. Ebenso war der Säuregrad konstant geblieben. Dies war auch nach 24 Stunden trotz der beträchtlichen Keimvermehrung noch der Fall. Da-

gegen war der Keimgehalt der gelüfteten Milch doppelt so hoch wie derjenige der unbehandelten offen aufbewahrten.

Tabelle 8.

Alter der Milch Std.	Aufbewahrungsart	Säure- grad	Keimzahl	Milchsäure- Streptokokken	Mikrokokken	Alkalibildende Kurzstäbchen	Gelatine verd. Stäbchen	Coli- aerogenes	Andere Organismen
<i>Versuch 8.</i>									
	Frische Milch	6,8	27 000	15,7	15,7	21,0	31,5	—	16,1
12	Verschlossen . . .	6,8	4 900 000	96,0	4,0	—	—	—	—
	Offen . . . .	6,7	3 200 000	96,0	4,0	—	—	—	—
	Belüftet . . . .	6,9	3 800 000	92,0	8,0	—	—	—	—
24	Verschlossen . . .	6,8	14 300 000	50,0	15,0	33,0	—	—	2,0
	Offen . . . .	6,7	10 300 000	62,5	14,0	16,0	7,5	—	—
	Belüftet . . . .	6,9	22 000 000	46,5	47,5	6,0	—	—	—
36	Verschlossen . . .	7,3	69 000 000	29,5	3,5	13,5	12,5	41,0	—
	Offen . . . .	7,0	65 000 000	82,0	7,0	9,5	—	1,5	—
	Belüftet . . . .	7,3	111 000 000	89,0	1,0	1,0	2,0	7,0	—
48	Verschlossen . . .	8,4	400 000 000	81,0	5,0	—	2,0	10,0	2,0
	Offen . . . .	8,0	300 000 000	99,0	—	—	—	1,0	—
	Belüftet . . . .	8,7	400 000 000	90,0	8,0	—	—	—	2,9
<i>Versuch 9.</i>									
	Frische Milch	6,0	91 000	25,0	15,0	60,0	—	—	—
7	Verschlossen . . .	6,3	13 000 000	5,0	—	95,0	—	100	—
	Offen . . . .	6,2	16 800 000	5,0	—	95,0	—	1 000	—
	Belüftet . . . .	6,0	19 000 000	6,0	—	94,0	—	100	—
12	Verschlossen . . .	6,3	30 000 000	50,0	5,0	45,0	—	1 000	—
	Offen . . . .	6,0	49 000 000	55,0	5,0	40,0	—	10 000	—
	Belüftet . . . .	6,4	78 000 000	74,0	—	26,0	—	1 000	—
18	Verschlossen . . .	10,2	2 200 Mill.	97,5	0,5	2,0	—	10 000	—
	Offen . . . .	12,6	2 500 »	98,5	—	1,5	—	10 000 000	—
	Belüftet . . . .	12,2	3 000 »	98,0	—	2,0	—	10 000	—

Zwischen 24 und 36 Stunden überschritt die Milch das Inkubationsstadium. Der Säuregrad war inzwischen gestiegen. Nach 36 Stunden steht die gelüftete Milch in bezug auf den Keimgehalt an erster Stelle, wogegen im Säuregrad noch keine wesentlichen Unterschiede bestehen.

Die erste Geruchsveränderung trat nach 33 Stunden auf, nachdem der Säuregrad um 0,5 zugenommen hatte. Der Geruch war schwach säuerlich, wobei ein Stich ins Essigsaure vorherrschte.

Auch nach 48 Stunden weist die offen aufbewahrte unbehandelte Milch sowohl bezüglich des Keimgehaltes als auch des Säuregrades die geringsten Veränderungen auf. Die Unterschiede im Säuregrad blieben auch weiterhin bestehen. So bestimmten wir nach 60 Stunden für die verschlossene Probe 10,5, für die offen aufbewahrte 9,2 und für die gelüftete 11,8 Säuregrade.

Betrachten wir nun die qualitative Zusammensetzung der Bakterienflora, so fällt schon bei der 12 Stunden alten Milch der hohe Anteil (über 90%) der Milchsäurestreptokokken auf. Sie waren bereits in der frischen Milch in einem relativ hohen Prozentsatz (15,7%) vertreten. Es handelt

sich hier um einen wenig- bis mehrgliedrigen Streptococcus, der die Milch erst nach 6 bis 10 Tagen zum Gerinnen brachte. Daraus erklärt sich wohl die langsame Säurezunahme in der Milch, sodass diese trotz der Aufbewahrung bei 20° und der dementsprechenden Keimvermehrung nach 60 Stunden erst einen Säuregrad von 9,2 bis 11,8 aufwies.

*Versuch 9.* Dieser wurde in gleicher Weise wie der vorhergehende durchgeführt und dabei Milch aus dem Betriebe Gw. während der Grünfütterungsperiode verwendet. Die frische Milch enthielt 91 000 Keime. Davon waren 25% Milchsäurestreptokokken, 15% Mikrokokken und 60% alkalibildende Kurzstäbchen.

Zur Feststellung der während der Aufbewahrung der Milch sich vollziehenden bakteriellen Veränderungen wurden Kulturen nach 7, 12 und 18 Stunden angelegt. Die Untersuchungsergebnisse sind ebenfalls aus Tabelle 8 ersichtlich.

Hierbei fällt zunächst auf, dass der Keimgehalt wieder bei der gelüfteten Milch am höchsten ist. Die Unterschiede gegenüber den andern zwei Aufbewahrungsmethoden sind zwar zum Teil nicht besonders gross. Doch ist zu beachten, dass bei der gelüfteten Milch regelmässig höhere Keimzahlen gefunden wurden. Es unterliegt daher wohl keinem Zweifel, dass *das Lüften der Milch das Bakterienwachstum eher fördert*.

Der Säuregrad hatte in stärkerem Masse bei der gelüfteten und offen aufbewahrten Milch zugenommen. Die geringste Säurezunahme weist die verschlossene Probe auf. Die Aufbewahrung der Milch unter Luftabschluss hat somit die Haltbarkeit nicht ungünstig zu beeinflussen vermocht.

Was nun die Zusammensetzung der Bakterienflora anbetrifft, so war diese nicht mannigfaltig. Sie bestand hauptsächlich aus Milchsäurebakterien und alkalibildenden Kurzstäbchen. Anfänglich gehörten diesen über 90% der Keime an. Im Verlaufe der Aufbewahrung ging ihr prozentualer Anteil dann infolge der stärkeren Vermehrung der Milchsäurebakterien immer mehr zurück, sodass er nach 18 Stunden nur noch 1,5—2% ausmachte.

Der Coli-aerogenes-Gruppe angehörende Organismen waren nur in geringer Zahl vertreten, ebenso die Kokken. Der Coli-Titer wurde mit Hilfe der von *Kessler* und *Svenartton*<sup>47)</sup> angegebenen Methode ermittelt, nach der die Milch in verschiedenen Verdünnungen auf eine Gentianaviolett-Galle-Pepton-Milchzucker-Lösung verimpft wird.

Auffallend ist das plötzliche Emporschneilen des Keimgehaltes und des Säuregrades zwischen 12 und 18 Stunden. Dies mag zum Teil mit der etwas höheren Aufbewahrungstemperatur von 22° zusammenhängen, bei der dieser Versuch durchgeführt werden musste. Vermutlich aber spielte hier noch ein Faktor mit, den wir in anderem Zusammenhange näher untersuchen werden.

### c) Zusammenfassung der in den Versuchen 1—9 erzielten Ergebnisse.

Bei näherer Betrachtung dieser Ergebnisse stellt es sich heraus, dass hinsichtlich des Einflusses der beschriebenen Aufbewahrungs- und Behandlungsmethoden, denen die Milch unmittelbar nach der Gewinnung unterzogen wurde, auf die bakteriellen und auch chemischen Veränderungen keine Uebereinstimmung herrscht. Am wenigsten ist ein Einfluss nach zwölfstündiger Aufbewahrungszeit wahrzunehmen. In den 12 durchgeführten Ver-

suchen war in 5 Fällen die Keimzahl der offen und verschlossen aufbewahrten Milch annähernd gleich hoch. In 7 Fällen bestand kein Unterschied in der Reduktionszeit und im Säuregrad. In 4 Fällen war die Keimzahl der verschlossen gehaltenen Milch kleiner und nur in 2 Fällen höher.

Aehnlich war es bei der 24 Stunden alten Milch, wenn auch die verschlossenen Proben etwas ungünstiger beurteilt werden müssen. Wiederum bezogen auf die 12 Versuche, war bei der verschlossen aufbewahrten Milch sechsmal der Keimgehalt und dreimal der Säuregrad gleich hoch wie bei der offen aufbewahrten. In zwei Fällen wies diese eine kürzere Reduktionszeit auf. Dagegen waren bei vier Proben der Keimgehalt und der Säuregrad der verschlossenen Milch höher, die Reduktionszeit kürzer. Dreimal war der Keimgehalt kleiner und der Säuregrad niedriger und bei zwei Untersuchungen die Reduktionszeit länger.

Es lassen sich also keine Gesetzmässigkeiten ableiten. Immerhin ist ein gewisser ungünstiger Einfluss des Zudeckens der Milch auf ihre Haltbarkeit nicht ganz in Abrede zu stellen. Aber die Unterschiede im Keimgehalt, der Reduktionszeit oder im Säuregrad sind manchmal so klein, dass man sich fragen muss, ob sie tatsächlich auf die Aufbewahrungsart zurückzuführen seien oder ob sie nur auf zufälligen Einflüssen beruhen. Es ist ja bekannt, dass bei derselben Milch, die unter genau gleichen Bedingungen in verschiedenen Proben aufgestellt wird, nicht überall ein gleich starkes Bakterienwachstum und eine genau gleiche Säurezunahme beobachtet werden kann. Trotz der einheitlichen Versuchsanordnung können immer noch ungleiche Bedingungen bestehen, die wir nicht ändern können, weil wir sie nicht genau kennen. Unterschiede können wohl in erster Linie durch Einflüsse subjektiver Natur bedingt sein. Dann aber können sich gewiss auch kleine Temperaturverschiedenheiten, die im gleichen Aufbewahrungsraum in den einzelnen Proben während einiger Zeit bestehen können, geltend machen. Um den Einfluss solcher Zufälle möglichst auszuschalten, sind zahlreiche Versuche erforderlich. Auf einzelne Versuchsergebnisse darf dabei nicht abgestellt werden.

Obwohl die Zahl unserer Versuche noch kein abschliessendes Urteil erlaubt, lassen die bezüglichen Ergebnisse doch den Schluss zu, dass die Haltbarkeit der frischgewonnenen Milch durch die Aufbewahrung in verschlossenen Gefässen nur in sehr geringem Masse herabgesetzt wird.

Dagegen kann eingewendet werden, dass man in der Praxis gegen teilige Erfahrungen gemacht hat. Diese sind u.E. auf den Umstand zurückzuführen, auf den *Burri*<sup>17)</sup> schon vor 30 Jahren hingewiesen hat. Wenn die Kannen unmittelbar nach dem Auffüllen mit kuhwarmer Milch verschlossen werden, so kühlst sich diese langsamer ab als in den offenen Transportgefässen. Die Keimvermehrung geht daher dort infolge der länger anhaltenden günstigen Temperaturen rascher vorstatten. In unseren Versuchen aber verwendeten wir kleinere Milchmengen, die für beide Aufbewahrungsarten auf eine bestimmte Temperatur eingestellt wurden.

In den verschlossenen Gefäßen ist das Wachstum anaerober Bakterien nicht gefördert worden. Wir konnten immer wieder feststellen, dass sich z. B. auch in der unter anaerobem Verschluss aufbewahrten Milch die sonst bei Luftmangel besser gedeihenden Milchsäurebakterien nicht rascher vermehrten und die betreffende Milch daher nie schlechter haltbar war.

*Das berechtigt uns zum Schlusse, dass frischgemolkene Milch in Gefäßen, die unmittelbar nach dem Einfüllen verschlossen werden, nicht wegen Luftmangels und auch nicht infolge der eingeschlossenen Milchgase, sondern nur deshalb rascher verdirtbt, weil die Bakterien in ihr wegen der langsamen Abkühlung besonders günstige Entwicklungsbedingungen vorfinden.*

Wie bei den verschlossenen Proben dürften auch die bei der unter einer Glashölle aufbewahrten Milch erzielten Ergebnisse gewertet werden. Auch Hanke<sup>5)</sup> hatte beobachtet, dass die unter einer Glashölle aufgestellte Milch eine raschere Keimvermehrung aufwies. In unsren Versuchen verhielt sich solche Milch in einem Falle noch etwas schlechter als die in einem verschlossenen Gefäß aufbewahrte. Wenn sich auch diese Ergebnisse nicht ohne weiteres erklären lassen, so widerlegen auch sie die Ansicht, dass die geringe Haltbarkeit der verschlossen aufbewahrten Milch auf Luftmangel beruhe. Denn von einem solchen kann unter der Glashölle kaum gesprochen werden. Es müssen vielmehr auch hier andere Ursachen mitspielen, auf die wir später noch zu sprechen kommen.

Aber auch das Lüften der Milch, d. h. die Anreicherung mit Luft, zeitigte nicht die Resultate, die man hätte erwarten können. Es hat wohl den Anschein, dass das Bakterienwachstum in der gelüfteten Milch etwas rascher vor sich gehe. Das betrifft aber nicht nur die aeroben Organismen. Die Milchsäurebakterien schienen in keiner Weise benachteiligt worden zu sein. So hat Koestler<sup>48)</sup> gezeigt, dass die Milchsäurebakterien bei einem bestimmten Mass des Sauerstoffgenusses besser gedeihen als bei zu reichlichem oder gar keinem Sauerstoff. Darauf mag es auch beruhen, dass die in Versuch 9 besonders reichlich vertretenen alkalibildenden Kurzstäbchen, die, wie wir später noch sehen werden, ausgesprochen aerob sind, in der gelüfteten Milch nicht länger die Oberhand zu behalten vermochten als in den beiden andern Proben.

### 3. Versuche mit gewöhnlicher Marktmilch.

#### a) Verschiedene Aufbewahrungsarten bei derselben Milch.

Die Frage betreffend die bakteriellen Veränderungen in der Milch während ihrer Aufbewahrung wäre unvollständig gelöst, beschränkten sich die Untersuchungen nur auf eine Aufbewahrungsart. Wir erachteten es vielmehr als notwendig, alle irgendwie in Betracht kommenden Aufbewahrungsmethoden herbeizuziehen, um festzustellen, inwieweit solche überhaupt die Bakterienentwicklung zu beeinflussen vermögen.

Dazu eigneten sich am besten Parallelversuche, in denen bei der gleichen Milch zwei oder mehrere Methoden geprüft wurden. Hierbei verwende-

ten wir meistens Frischmilch einzelner Lieferanten, wie sie in den Transportkannen an die Milchhändler geliefert wird. In einem Fall war es Mischmilch aus einer Käserei. Immer aber entnahmen wir die Proben spätestens zwei Stunden nach dem Melken.

*Versuch 10.* Die Milch wurde aus dem Transportgefäß des Lieferanten G. H. entnommen und dann in hoher und niedriger Schicht aufbewahrt. Dazu benützten wir zwei 300 cm<sup>3</sup> fassende Bechergläser und vier Esmarchschalen, wobei die Milchschicht in den ersten 11 cm, in den letzteren 2 cm hoch war. Die Bechergläser und eine Esmarchschale blieben offen, d. h. sie waren in einiger Entfernung über der Mündung mit einer Glasscheibe überdeckt. Zwei Schalen waren mit übergreifenden Deckeln verschlossen.

Die Aufbewahrungstemperatur betrug 20° C. Die Untersuchung der Milch erfolgte nach 10 und 24 Stunden, wobei zur Feststellung der Bakterienflora Chinablau-Milchzuckeragar verwendet wurde.

Die frische Milch wies einen Säuregrad von 6,3 auf und enthielt 23 000 Keime. Davon waren 16,5% verflüssigende und 7% nicht verflüssigende Kokken, 3,5% alkalibildende Kurzstäbchen, 10% Milchsäurestrep tokokken und 63% indifferente, Gelatine nicht verflüssigende und Milch nicht verändernde plumpe Kurzstäbchen.

Nach 10 Stunden konnte noch keine Geruchsveränderung festgestellt werden. Nach 24 Stunden war der Geruch schwach herb-säuerlich, der in etwas stärkerem Masse beim Entleeren der Gläser verspürt wurde. Der Rahm in den offenen Gefäßen wies keinen Geruch auf. Im Gegensatz zur bedeckten Schale war die Rahmschicht in der offenen zähe und liess sich schwerer in der Milch verteilen.

Die weiteren Prüfungsergebnisse sind in den Tabellen 9 und 10 zusammengestellt.

*Tabelle 9.*

Bezeichnung	Keimzahl	Reduktase	Keimzahl	Reduktase	Säuregrad	
	nach 10 Stunden		nach 24 Stunden		24 Std.	32 Std.
Hohe Schicht, offen . . .	520 000	3 <sup>3</sup> / <sub>4</sub> Std.	570 Mill.	23 Min.	7,4	10,6
Flache Schicht, offen . . .	660 000	4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> »	1200 »	16 »	7,0	9,7
» » , zugeschlossen	770 000	3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> »	1600 »	11 »	7,1	11,7

Die in den zugeschlossenen Schalen aufbewahrte Milch weist nach 10 und 24 Stunden den höchsten Keimgehalt auf. Am kleinsten ist er in der hohen Milchschicht. Dementsprechend ist auch die Reduktionszeit länger.

Etwas anders hat sich der Säuregrad verhalten. Er hat nach 24 Stunden bei Probe 1 um 1,1, bei den beiden andern Proben um 0,7 bzw. 0,8 zugenommen. Nach 32 Stunden hingegen weist die Milch in der zugeschlossenen Schale die höchste Säurezunahme auf. Es muss somit in diesem Falle dem Zudecken eine nachteilige Wirkung zugeschrieben werden.

*Tabelle 10.*

Bakteriengruppen	Hohe Schicht offen		Niedere Schicht offen		Niedere Schicht zugeschlossen	
	n. 10 Std.	n. 24 Std.	n. 10 Std.	n. 24 Std.	n. 10 Std.	n. 24 Std.
Milchsäurestrep tokokken (vorw. <i>Strept. lactis</i> )	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Mikrokokken . . . . .	27,0	100,0	12,0	80,0	17,0	79,0
Gelatine verfl. Stäbchen . . . . .	33,0	—	3,0	—	13,5	—
Alkalibildende Kurzstäbchen . . . . .	4,0	—	—	1,0	11,5	2,0
Indifferente Stäbchen . . . . .	19,0	—	36,5	1,0	22,0	4,0
	17,0	—	48,5	18,0	36,0	15,0

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, waren nach 10 Stunden in sämtlichen Proben die nichtsäurebildenden Bakterien vorherrschend. Es sind obligat aerobe und aerobe Verhältnisse vorziehende Stäbchen und Kokken,

die in der flachen Milchschicht besonders günstige Entwicklungsbedingungen finden. Nach 24 Stunden dagegen konnten in der millionenfachen Verdünnung in der hohen Milchschicht nur noch Milchsäurebakterien nachgewiesen werden, während in der niedrigen Schicht immer noch 20% der gesamten Keimzahl Nichtsäurebildnern angehören. Die Gesamtzahl an Milchsäurebakterien ist jedoch in der flachen Milchschicht immer noch merklich höher als in der hohen Schicht. Es muss daraus geschlossen werden, dass sich in den niedrigen Milchschichten überhaupt eine stärkere Bakterienentwicklung vollzieht, wobei bis zu einem gewissen Grade auch die Milchsäurestreptokokken beteiligt sind.

*Versuch 11.* Hierzu verwendeten wir Milch des Lieferanten B. K. Sie wurde in 3 dl fassenden Flaschen aufbewahrt, wobei zwei zu  $\frac{2}{3}$  gefüllt (eine offen und eine verschlossen) und eine ganz gefüllt und verschlossen waren. Außerdem wurden Proben in einer Schichthöhe von 4 bzw. 20 cm in Standzylindern aufgestellt.

Die frische Milch enthielt 32000 Keime. Säuregrad 6,3. Die Bakterienflora setzte sich folgendermassen zusammen: 30% Kokken, 25% alkalibildende Kurzstäbchen, 45% indifferenten plumpe Kurzstäbchen. Sie verflüssigten weder Gelatine, noch veränderten sie Milch in irgendeiner Weise.

Die aufbewahrte Milch wurde nach 12 und 24 Stunden untersucht. Auch nach 24 Stunden konnte nur eine geringe Geruchsveränderung festgestellt werden. Neben der Bakterienflora auf Milchzuckeragarplatten und anaeroben Reagensglasausstrichen wurde auch der Coli-Titer bestimmt.

*Tabelle 11.*

Bezeichnung	Keimzahl	Anaerober Ausstrich	Keimzahl	Anaerober Ausstrich	Reduktase	Säuregrad
	nach 12 Stunden	nach 24 Stunden				
1. Flasche, offen . . . . .	15 600 000	300 000	1100 Mill.	15 000 000	28 Min.	6,6
2. " halb gefüllt, verschl.	15 400 000	120 000	1500 "	29 000 000	28 "	6,7
3. " ganz voll . . . . .	1 700 000	200 000	107 "	28 000 000	33 "	6,8
4. Hohe Schicht, 20 cm . . . .	5 500 000	300 000	640 "	29 000 000	26 "	6,7
5. Flache Schicht, 4 cm . . . .	14 000 000	200 000	93 "	19 000 000	31 "	6,3

Was nun zunächst die Keimzahlen anbetrifft, die bei der 12 Stunden alten Milch auf den Agarplatten ermittelt wurden, so stehen nach Tabelle 11 die Proben 1, 2 und 5 obenan. Die geringste Keimzunahme hat die Milch in der ganz gefüllten Flasche und in der hohen Schicht erfahren. Bei der während 24 Stunden aufbewahrten Milch liegen die Verhältnisse ungefähr gleich, mit dem Unterschied jedoch, dass hier die niedrige Milchschicht den geringsten Keimgehalt aufweist. Hier ist denn auch der Säuregrad noch unverändert, während er bei den andern Proben um 0,3—0,5 Grade gestiegen war.

Aus Tabelle 12 ist die qualitative Zusammensetzung des Keimgehaltes der in verschiedener Weise aufbewahrten Proben ersichtlich.

Bei allen Proben herrscht nach 12 Stunden ein alkalibildendes, Gelatine nicht verflüssigendes, obligat aerobes Kurzstäbchen vor. Mit Ausnahme der Proben 3 und 4 hatte es auch in der 24 Stunden alten Milch noch die Oberhand. Es vermochte sich vor allem in der niedrigen Milchschicht zu behaupten. Bei drei Proben waren auf den Agarplatten zwei Gelatine ver-

Tabelle 12.

Bakteriengruppen	1 Offen		2 Verschlossen		3 Ganz gefüllt		4 Hohe Schicht		5 Niedere Schicht	
	nach 12 Std.	nach 24 Std.	nach 12 Std.	nach 24 Std.	nach 12 Std.	nach 24 Std.	nach 12 Std.	nach 24 Std.	nach 12 Std.	nach 24 Std.
Milchsäurestreptokokken (vorwiegend <i>Strept. lactis</i> ) . . .	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Gelatine verfl. Stäbchen . . .	3,2	27,0	1,3	23,4	4,0	89,2	9,0	85,0	3,5	16,0
Alkalibildende Kurzstäbchen . . .	—	—	14,3	13,0	13,5	—	—	—	—	—
Andere Organismen . . .	96,8	63,0	84,4	63,6	82,5	4,5	91,0	15,0	96,5	84,0
Coli-aerogenes . . . . .	—	—	—	—	—	6,3	—	—	—	—
	—	1 Mill.	—	10 Mill.	—	100 T	—	1 Mill.	—	1 Mill.

flüssigende Stäbchen vertreten. Eines veränderte die Milch jedoch nicht. Das andere gehörte der Proteus-Gruppe an.

Nach 34 Stunden trat bei den Proben 1—4 Gerinnung ein, Probe 5 dagegen war noch kochfähig. Die Milchsäurebakterien sind hier durch die alkalibildenden Kurzstäbchen zurückgedämmt worden. Die ersteren machen zunächst nur 16% der Gesamtflora aus.

Bei diesen Versuchen kommt der Einfluss bestimmter Aufbewahrungsarten in der Zusammensetzung der Bakterienflora deutlich zum Ausdruck. Besonders ausgesprochen sind die Unterschiede bei der 24 Stunden alten Milch, während sich bei zwölfstündiger Aufbewahrungszeit noch keine wesentlichen Abweichungen zeigten. Die obligat aeroben alkalibildenden Kurzstäbchen wurden in der flachen Milchschicht begünstigt und im ganz gefüllten und verschlossenen Gefäße sowie in der hohen Schichtung zurückgedrängt. In der während 12 Stunden aufbewahrten Milch machten jene Bakterien auch bei diesen Aufbewahrungsarten noch den Hauptanteil der Flora aus. Es stand den Organismen in der Milch selbst anfänglich offenbar noch genügend Sauerstoff zur Verfügung. Nachher sind sie dann aber von den bei Sauerstoffmangel besser gedeihenden Milchsäurebakterien überflügelt worden.

Beachtenswert ist aber, dass diese Milch, in der die aeroben Nichtsäurebildner infolge Sauerstoffmangels frühzeitig unterdrückt wurden, pro cm<sup>3</sup> 95 Millionen Milchsäurebakterien enthielt, gegenüber 360 und 297 Millionen des offenen bzw. verschlossenen nur zum Teil gefüllten Gefäßes. Dies erweckt den Eindruck, als ob die Milchsäurestreptokokken durch die alkalibildenden Kurzstäbchen in ihrem Wachstum gefördert worden seien. Am stärksten hatten sich die Milchsäurestreptokokken in der hohen Schicht vermehrt. Im Vergleich zu den Proben 1 und 2 kommt hier der Einfluss der höheren Schichtung zum Ausdruck (10 cm gegenüber 20 cm). Die Milchsäurestreptokokken bildeten kürzere und längere Ketten und koagulierten die Milch nur langsam.

Die offen und verschlossen aufbewahrte Milch (Proben 1 und 2) weist in der Zusammensetzung der Bakterienflora keine Unterschiede auf. Auch im absoluten Keimgehalt besteht kein wesentlicher Unterschied. Durch das blosse Verschliessen eines nur zum Teil mit Milch gefüllten Gefäßes wurden die luftliebenden Organismen in ihrem Wachstum nicht gehemmt.

Es stand ihnen in dem über der Milch befindlichen Luftraum offenbar genügend Sauerstoff zur Verfügung. Eine besondere Begünstigung der anaeroben Bakterien war also nicht eingetreten. Dies geht auch aus den Keimzahlen der anaeroben Reagensglasausstriche hervor.

Auf diesen herrschte ein plumpes Stäbchen vor. Es verflüssigte Gelatine, koagulierte Milch und erzeugte in ihr einen baldrianähnlichen Geruch. Auf den Ausstrichen der Proben 1, 2 und 3 der 12 Stunden alten Milch gehörten ihm ungefähr 90%, bei 4 und 5 50 bzw. 70% der Kolonien an. In der während 24 Stunden aufbewahrten Milch wurde es nur noch vereinzelt gefunden, ausgenommen die Probe 4 (hohe Schicht). Die von dieser Milch hergestellten anaeroben Ausstriche wiesen vorwiegend Kolonien des erwähnten Stäbchens auf. Im Vergleich zur Gesamtkeimzahl waren sie, wie auch die zur Coli-aerogenes-Gruppe gehörenden Organismen, aber nur in geringem Masse vertreten (höchstens 1—2%).

*Versuch 12.* Mischmilch aus Käserei R. Die Milch wurde wie unten skizziert, in weit-halsige Halbliter-Flaschen abgefüllt. Säuregrad der frischen Milch 6,4, Keimgehalt 36000.

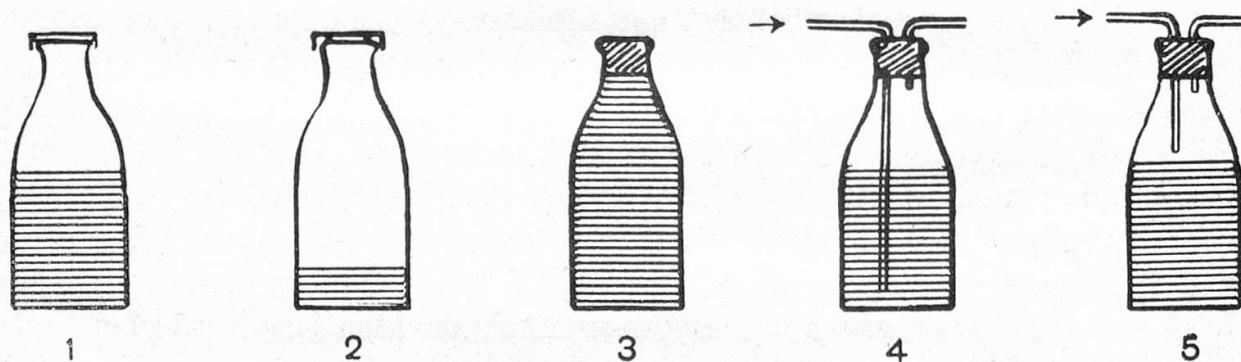


Abbildung 2.

Dieser bestand aus 50% zitronengelben, Gelatine verflüssigenden, Milch nicht koagulierenden Stäbchen, 30% weissen und gelben Kokken und 20% Milchsäurestreptokokken.

Nach 18 Stunden konnte in der zugedeckten Kontrollflasche erstmals ein eigenartig säuerlicher Geruch festgestellt werden, worauf die Milch untersucht wurde. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 13 und 14 zusammengestellt.

Tabelle 13.

Bezeichnung	Keimzahl Platten	Keimzahl Anaerober Ausstrich	Re- duktase	Säuregrad
	nach 18 Stunden			33 Std.
1. Flasche zu $\frac{3}{4}$ gefüllt, verschlossen . . .	140 000 000	4 000 000	1 $\frac{1}{4}$ Std.	6,6 11,6
2. » offen, flache Schicht . . .	300 000 000	2 000 000	1 $\frac{1}{4}$ »	6,6 11,6
3. » ganz gefüllt, verschlossen . . .	100 000 000	3 000 000	1 $\frac{3}{4}$ »	6,6 12,1
4. Milch ständig durchlüftet . . . . .	700 000 000	6 800 000	29 Min.	6,4 14,4
5. Luft über der Milch ständig erneuert	94 000 000	2 800 000	1 $\frac{1}{4}$ Std.	6,6 9,5

Die Art der Aufbewahrung und der Behandlung kommt in dem auf den Agarplatten ermittelten Keimgehalt, zum Teil auch in der Reduktionszeit zum Ausdruck. Die stärkste Keimzunahme weisen die ständig durchlüftete Milch und die flache Milchschicht auf. Dann folgt die in der verschlossenen Flasche (teilweise gefüllt) aufbewahrte Milch. Bedeutend langsamer ging

die Keimvermehrung in der ganz gefüllten Flasche und in derjenigen Milch, über der die Luft ständig erneuert worden war, vor sich.

Tabelle 14.

Bakteriengruppen	1 Ver- schlossen, hohe Schicht	2 Offen, niedere Schicht	3 Ganz gefüllt	4 Milch durch- lüftet	5 Luft über Milch erneuert
	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Milchsäurestreptokokken (Strept. lactis)	29,0	4,0	90,0	15,0	32,0
Gelatine verfl. Stäbchen . . . . .	3,0	56,0	—	85,0	—
Alkalibildende Kurzstäbchen . . .	68,0	40,0	5,0	—	68,0
Andere (Kokken und Coli-aerogenes)	—	—	5,0	—	—

Vergleichen wir die fünf Zahlenwerte hinsichtlich der prozentualen Zusammensetzung der Bakterienflora, so fällt zunächst auf, dass in den Proben 1 (teilweise gefüllt und verschlossen) und 5 (Lufterneuerung über der Milch) neben den Milchsäurebakterien die alkalibildenden, Gelatine nicht verflüssigenden Kurzstäbchen in gleichem Masse vorherrschen. Die ständige Lufterneuerung über der Milchschicht hatte nicht den Einfluss auf das Wachstum aerober Bakterien, den man hätte erwarten können. Es ist daher auch nicht anzunehmen, dass die flüchtigen, sich im Luftraum über der Milch ansammelnden Stoffwechselprodukte das Bakterienwachstum anregend oder hemmend beeinflussen.

Für die Milchsäurestreptokokken scheinen die Bedingungen weniger günstig gewesen zu sein. So wies Probe 5 nach 33 Stunden erst einen Säuregrad von 9,5 auf, während alle andern Proben nach dieser Zeit das Kochen nicht mehr aushielten oder doch an der Grenze der Kochfähigkeit standen.

In entscheidendem Masse dagegen hat die *Durchlüftung* die Zusammensetzung der Bakterienflora beeinflusst. Die Milchsäurebakterien blieben zurück. 85% der agarplattenwüchsigen Keime gehörten einem beweglichen, Gelatine verflüssigenden Stäbchen an. Der Säuregrad hatte nach 24 Stunden noch nicht zugenommen, war aber nach 33 Stunden 2,3—4,9 Grade höher als bei allen andern Proben. In der Folge hatte sich in der durchlüfteten Milch das Bact. aerogenes auch in stärkerem Mass entwickelt. In der 33 Stunden alten Milch machte es 67% des Keimgehaltes aus. Zusammen mit den Milchsäurebakterien wird das stärker auftretende Bact. aerogenes das plötzliche Emporschnellen des Säuregrades bewirkt haben.

Günstige Wachstumsbedingungen bestanden offenbar für die aeroben Organismen in der niedrigen Milchschicht. 96% des Keimgehaltes gehörten dieser Organismengruppe an. Davon waren 56% bewegliche, Gelatine verflüssigende und 40% alkalibildende, Gelatine nicht verflüssigende Stäbchen. Nachträglich setzte dann auch in dieser Milch eine raschere Säuerung durch Milchsäurestreptokokken ein, sodass nach 33 Stunden die niedere und hohe Milchschicht den gleichen Säuregrad aufwiesen.

Die Aufbewahrung der Milch in der ganz gefüllten und verschlossenen Flasche hat auch hier wieder günstig auf die Zusammensetzung des Keim-

gehaltes gewirkt. Aerobe schädliche Bakterien wurden unterdrückt. Die Milchsäurebakterien wuchsen nahezu in Reinkultur. Als haltbarer hat sich diese Milch jedoch in der Folge nicht erwiesen.

Auf den anaeroben Ausstrichen (gew. Agar) waren bei Probe 1 ca. 75% zur Coli-aerogenes-Gruppe gehörende Organismen gewachsen, aus Probe 2 entwickelten sich 80% Milchsäurestreptokokken und 20% eines unbeweglichen, Gelatine nicht verflüssigenden Stäbchens, das in steriler Magermilch einen baldrianähnlichen Geruch erzeugten. Der Ausstrich der Probe 3 enthielt vorwiegend Kolonien von *Streptococcus lactis*, derjenige von Probe 4 hauptsächlich Coli-aerogenes-Bakterien und von Probe 5 75% Streptokokken und 25% Coli-aerogenes-Bakterien.

Vom Milchproduzenten wird während der warmen Jahreszeit verlangt, dass er die in den Milchkannen durch Einstellen in kaltes Wasser abzukühlende Milch häufig röhrt. Die Abkühlung wird dadurch beschleunigt. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass sich z. B. über Nacht keine zähe Rahmschicht zu bilden vermag, die sich dann in der Milch nicht mehr leicht verteilen lässt und zur Bildung von Rahmfetzen Anlass gibt.

Nach *Koning*<sup>2)</sup> werden die biologischen Prozesse in der Milch durch das Rühren gefördert. Das mag seinen Grund einmal darin haben, dass die Milch dadurch bis zu einem gewissen Grade mit Luft angereichert, d. h. gelüftet wird. Dann aber dürfte auch der Umstand eine Rolle spielen, dass sich in unberührt stehender Milch die Milchsäuregärung ungleichmäßig vollzieht, worauf wir weiter oben schon hingewiesen haben. Auf eine ähnliche Beobachtung stützt *Schmidt*<sup>49)</sup> seine Forderung, dass die zur Käsefabrikation bestimmte Milch gerührt werden müsse, um sie gleichmäßig reifen zu lassen, und neuerdings verlangt *Wilson*<sup>50)</sup>, dass bei der Reduktaseprobe die Gläser von 30 zu 30 Minuten gestürzt werden (Kautschukstopfen).

Es schien uns daher nützlich, im Zusammenhang mit dem Studium der Aufbewahrungsmethoden der Milch auch einige Versuche über den Einfluss des Rührens anzustellen.

*Versuch 13.* In eine Anzahl weithalsiger Sterilisierflaschen wurde je  $\frac{1}{2}$  Liter Milch aus der Käserei Gr. eingefüllt. Die Milch zweier Flaschen blieb unberührt, in zwei andern wurde sie während der ersten 3 Stunden öfters gerührt. Zwei weitere Proben endlich rührten wir bis zur Untersuchung in Zeitabständen von 1—2 Stunden.

Die frische Milch enthielt 160 000 Keime. Der Säuregrad betrug 6,1.

In einer besondern Flasche wurde der Geruch der Milch fortwährend geprüft. Die erste deutliche Veränderung konnte nach 12 Stunden festgestellt werden. Der Geruch erinnerte an denjenigen der Waschlappen, oft war er auch schwach ranzig, nach 20 Stunden zuerst mehr aromatisch-säuerlich, dann aber vorherrschend adstringierend-säuerlich. Nach dem Durchmischen der Milch konnte nur noch ein schwach aromatischer, erdbeerartiger Geruch wahrgenommen werden. Der Geschmack war schwach bitterlich.

Aus Tabelle 15 sind die nach 12 und 22 Stunden ermittelten Untersuchungsergebnisse ersichtlich.

Was die Keimzahlen anbetrifft, so unterscheiden sie sich sowohl bei der 12 als auch bei der 22 Stunden alten Milch nur wenig. Dagegen konnten bei dieser Abstufungen in der Methylenblaureduktion festgestellt werden.

Tabelle 15.

	1 Milch unberührt stehen gelassen			2 Während den ersten 3 Std. stündl. gerührt			3 Ständig gerührt bis zur Prüfung		
	Keimzahl	Red.	S°	Keimzahl	Red.	S°	Keimzahl	Red.	S°
Nach 12 Stunden . . .	7 800 000	> 3 Std.	6,2	11 000 000	> 3 Std.	6,1	8 800 000	> 3 Std.	6,2
» 22 » . . .	95 000 000	32 Min.	6,7	92 000 000	20 Min.	6,9	94 000 000	12 Min.	6,1
Zusammensetzung der Mikroflora:	n. 12 Std.	22 Std.	12 Std.	22 Std.	12 Std.	22 Std.	12 Std.	22 Std.	12 Std.
Milchsäurestrep tokokken	4,0	76,0	26,5	93,0	36,0	96,0			
Gel. verfl. bewegl. Stäbchen	46,5	10,0	56,0	4,0	16,5	—			
Alkalibild. Kurzstäbch.	49,5	9,0	13,0	—	46,5	—			
Andere . . . . .	—	5,0	4,5	3,0	1,0	4,0			
Coli-aerogenes, Titer .	100	10 000	10 000	100 000	1000	1 000 000			

Die ständig gerührte Milch wies die kürzeste, die unberührt gebliebene Milch die längste Entfärbungszeit auf.

Der Säuregrad war nach 12 Stunden bei allen drei Proben noch unverändert. Nach 22 Stunden hatte er bei den Proben 1 und 2 um 0,6 und 0,8 Grade zugenommen. Bei der ständig gerührten Milch war er konstant geblieben.

Der Einfluss des Rührens kam mehr in der qualitativen Zusammensetzung des Keimgehaltes zum Ausdruck. Die während der Aufbewahrung unberührt stehen gelassene Milch enthielt nach 12 Stunden nur 4% Milchsäurestrep tokokken, während diese in den gerührten Proben zu 26,5 und 36% festgestellt werden konnten. Dafür waren in Probe 1 die Gelatine verflüssigenden und alkalibildenden, Gelatine nicht verflüssigenden Stäbchen stärker vertreten.

Nach 22 Stunden enthielt die nicht gerührte Milch erst 76% Milchsäurestrep tokokken, die gerührten Proben dagegen 93 und 96%. Der Säuregrad hatte aber noch nicht zugenommen. Auf den von der ersten und zweiten Probe angelegten Agarplatten waren neben schwach säuernden Streptokokken vorwiegend Kolonien vom typischen *Streptococcus lactis* gewachsen, während die Plattenkultur der dritten Probe in der entsprechenden millionenfachen Verdünnung ausschließlich Kolonien schwach säuernder Streptokokken aufwies. Sie röteten Lackmusmilch, brachten sie aber nicht zur Gerinnung. Man wird deswegen aber nicht den Schluss ziehen dürfen, diese Streptokokken seien durch das häufige Rühren in ihrer Entwicklung besonders gefördert worden.

Hingegen hat es den Anschein, dass die verflüssigenden und nicht verflüssigenden Stäbchen ungünstig beeinflusst wurden, während das Wachstum der Coli-aerogenes-Bakterien eher gefördert worden ist. Den niedrigsten Coli-Titer weist die unberührt gelassene, den höchsten die am meisten gerührte Milch auf.

In der Tatsache, dass die aeroben Kurzstäbchen durch das Rühren unterdrückt und die Streptokokken eher gefördert worden sind, scheint ein Widerspruch zu liegen. Denn das Rühren ist ja zugleich mit einer Durchlüftung der Milch verbunden. Wir machten aber in allen unsren Versuchen die Beobachtung, dass die aeroben Keime hauptsächlich an der Rahmoberfläche gedeihen. Wird nun ein Teil davon durch das Rühren in tiefere Milchschichten gebracht, so finden die Bakterien offenbar hier trotz der damit verbundenen Lüftung der Milch nicht die optimalen Lebensbedingungen wie an der Rahmoberfläche. Die Milch wird vermutlich doch nicht so mit Luft angereichert, dass sich die obligat aeroben Keime in tiefer gelegenen Milchschichten ebenso rasch zu vermehren vermögen wie die Milchsäure-streptokokken, die bei Luftmangel besser gedeihen. Im Gegensatz zu den aeroben Keimen werden durch das Rühren die Milchsäurestreptokokken, die sich anfänglich ebenfalls im Rahm ansammeln, eher in günstigere Verhältnisse gebracht. Wie nach *Mertens*<sup>51)</sup> das starke Stürzen der Milch die Aufrahmfähigkeit schädigt, so wird diese auch durch das wiederholte Rühren herabgesetzt. Die luftbedürftigen Keime gelangen dann weniger rasch in die sauerstoffreichere Oberflächenschicht. Denkbar wäre auch, dass infolge des Rührens die Milchsäurebakterien sich dem optimalen Sauerstoffdruck näher befinden als in der ruhenden Milch (Kœstler).

**b) Zusammenfassung der Ergebnisse der Versuche 10—13.**

Aus den vorigen vier Versuchen geht deutlich hervor, dass die Art und Weise, wie die Milch in den Gefässen aufbewahrt wird, die Entwicklung der Bakterien quantitativ und qualitativ beeinflusst.

Am deutlichsten sind die Unterschiede bei der in hoher und niedriger Schicht und bei der in offenen und ganz gefüllten, verschlossenen Gefässen aufbewahrten Milch. Das Verschliessen von nur zum Teil gefüllten Gefässen hatte nicht jenen nachteiligen Einfluss auf die Haltbarkeit, wie man häufig annimmt.

Die in niedriger Schicht aufbewahrte Milch blieb länger kochfähig, was aber nicht auf ein geringeres Keimwachstum zurückgeführt werden kann. Im Gegenteil, in flacher Schicht gelagerte Milch war fast immer bedeutend keimreicher. Es entwickelten sich aber mehr aerobe, nicht säurebildende Bakterien, die im grossen und ganzen zu den weniger erwünschten gehören.

In den hohen Schichten vermehrten sich vorwiegend die echten Milchsäurebakterien. Demgemäß nahm der Säuregrad rascher zu und die Haltbarkeit dieser Milch war kürzer. Eine Ausnahme machte die in Versuch 12 untersuchte Milch. Hier säuerte die flach geschichtete Milch gleich rasch wie die in hoher Schicht aufbewahrte.

Neben der Schichthöhe im offenen spielte die Auffüllung der Milch im verschlossenen Gefäss eine Rolle. In der ganz gefüllten Flasche wurden die ausgesprochen aeroben Organismen zum grossen Teil unterdrückt. Die in dieser Weise aufbewahrte Milch hat sich in allen Versuchen nach einer

bestimmten Zeit im Vergleich zu andern Methoden als die keimärmste erwiesen. Die Säurezunahme dagegen war so hoch wie in den nur zum Teil gefüllten Gefässen. Trotz der geringeren Keimzunahme wird daher die Haltbarkeit der Milch durch das Zufüllen der Gefässer nicht erhöht. In solcher Milch vollzieht sich aber im Gegensatz zu andern Aufbewahrungarten eine fast reine Milchsäuerung. Natürlich können schädliche anaerobe oder fakultativ anaerobe Bakterien bei einer stärkeren Infektion der Milch in den völlig aufgefüllten und verschlossenen Gefässen auch günstigere Entwicklungsbedingungen finden. Es sei aber erwähnt, dass z. B. in Versuch 11 die Milch der teilweise gefüllten und verschlossenen Flasche einen 100-mal höheren Coli-Titer aufwies als die Milch des ganz vollen und verschlossenen Gefäßes.

*Als schädlich hat sich das ständige Durchlüften der Milch erwiesen.* Es hat das Wachstum der aeroben, Gelatine verflüssigenden Stäbchen, zum Teil auch der Aerogenes-Bakterien gefördert. Das Keimwachstum kann vermutlich auch dadurch begünstigt werden, dass sich in der Milch infolge der durchziehenden Luft fortwährend Strömungen vollziehen, wobei ein Ausgleich der durch die Bakterien gebildeten Stoffwechselprodukte stattfindet.

Die ständige Lufterneuerung über der Milch hat gegenüber der verschlossen aufbewahrten das Wachstum der aeroben Organismen nicht gefördert. Die Keimvermehrung ging sogar langsamer vor sich.

*Das Rühren der Milch bewirkte keine Erhöhung der Keimzahl, wohl aber eine Verschiebung der qualitativen Zusammensetzung.* Das Wachstum der Milchsäurebakterien wurde eher begünstigt.

Der überwiegende Teil der in aufbewahrter Marktmilch als vorherrschend gefundenen Nichtsäurebildner waren stäbchenförmige peptonisierende und nicht peptonisierende alkalibildende Stäbchen. Zu den ersteren gehörten das Bact. fluorescens und ihm verwandte Gelatine verflüssigende und nicht verflüssigende Stäbchen. Die meisten erzeugten in Rahm oder Magermilch Geruchsstoffe. Nur in einem einzigen Falle konnten verflüssigende Kokken in grösserer Zahl festgestellt werden. Sie waren in der frischen Milch fast immer vorhanden und meist in einem höheren Prozentsatze als die später vorherrschenden Gruppen. Jene wurden von diesen meist schon nach verhältnismässig kurzer Zeit überwuchert.

#### 4. Getrennte Untersuchung der Rahm- und Milchsicht.

##### a) Allgemeines.

Bei unsrern Geruchsprüfungen stellten wir zu gewissen Zeiten häufig schwach ranzige Gerüche fest. Wir beobachteten ferner, dass in vielen Fällen ein beim Abdecken eines Milchgefäßes aufgetretener Geruch nach dem Durchmischen der Milch nicht mehr wahrgenommen werden konnte. Das führte uns auf den Gedanken, dass die während der Aufbewahrung der Milch entstehenden Gerüche wohl in erster Linie in der Rahmschicht erzeugt werden müssen. In dieser Vermutung wurden wir durch Beobachtungen noch

bestärkt, die wir anlässlich früherer Untersuchungen bei roher mit Lackmuslösung versetzter Milch gemacht hatten, wobei die Reduktion des Methylenblaus immer unter der Rahmschicht einsetzte. Am längsten blieb die blaue Farbe am Grunde der Milchschicht bestehen. Darnach vollzieht sich das lebhafteste Keimwachstum anfänglich unmittelbar unter der Rahmschicht. Ob dies schon im Rahm der Fall ist, konnte an Hand der Lackmusprobe nicht festgestellt werden, weil sich das Fett durch Lackmus nicht färbt.

Von der Tatsache ausgehend, dass die Milchsäurestrep tokokken bei Luftmangel besser gedeihen, herrscht fast allgemein die Auffassung, dass in einer Milchschicht die Säuerung unten beginne und nach oben fortschreite.

So äussert sich z. B. *Löhnis*<sup>52)</sup> darüber in folgender Weise: «In tiefer Schicht säuert die Milch in der Regel rascher als in flacher Schicht». Verschiedene Autoren aber sind zu gegenteiligen Ergebnissen gelangt. *Kästler*<sup>48)</sup> machte die Beobachtung, «dass ein Maximum der Säureproduktion und die schönsten typischen Zellformen erreicht werden, wenn der Sauerstoff bis zu einem gewissen Grade zutreten kann». *Herr* und *Beninde*<sup>53)</sup>, sowie *Gernhardt*<sup>53)</sup> fanden im Rahm einen zum Teil bedeutend höheren Keimgehalt als in der darunter liegenden fettärmeren Milchschicht.

*Schmidt*<sup>49)</sup> stellte an Hand von Säuregradbestimmungen fest, dass in Vollmilch die Säuerung oben beginnt und nach unten fortschreitet. Sie wies z. B. bei einer in einem 65 cm hohen Zylinder aufbewahrten Milch die unter dem Rahm (dieser wurde nicht untersucht) befindliche Milchschicht nach 61 Stunden einen um 12 Säuregrade höheren Säuregehalt auf als die tiefste Schicht. Der Keimgehalt war 85mal höher. Die Bakterienflora der oberen Schicht bestand aus *Strept. lactis* und der *Coli*-Gruppe angehörenden Organismen. In der untersten Schicht wurde nur *Strept. lactis* gefunden. Schmidt führt diese Erscheinung auf die bakterientransportierende Wirkung der Fettkügelchen zurück. Magermilch säuerte in allen Schichten ziemlich gleichmässig.

*Versuch 14.* Bei unsren Untersuchungen studierten wir zunächst die Säureverhältnisse in der Rahm- und der darunter liegenden Milchschicht. Zu diesem Zwecke wurden ca. 3½ dl Milch (Mischmilch der Käserei H.) in einen Glaszylinder von 4 cm lichter Oeffnung in einer Schichthöhe von 31 cm während 33 Stunden bei 20° aufbewahrt. Die Höhe der Rahmschicht betrug 2,8 cm. Sie wurde vorsichtig abgehobert und alsdann auch die darunter befindliche Milch in Schichten von 3 zu 3 cm. Dabei achteten wir darauf, dass das Saugrörchen nicht zu tief griff, um den bestehenden Säuregehalt der verschiedenen Schichten möglichst wenig zu verändern. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 16.

Schichtbezeichnung	Säuregrad
1. Rahmschicht . . . . .	19,6
2. Erste Milchschicht . . . . .	9,3
3. Zweite » . . . . .	8,7
4. Dritte » . . . . .	8,4
5. Vierte » . . . . .	8,3
6. Fünfte » . . . . .	8,1
7. Sechste » . . . . .	8,0
8. Siebente » . . . . .	8,6
9. Achte » . . . . .	8,2
10. Neunte » . . . . .	8,0
11. Zehnte » . . . . .	8,6
Mittlerer Säuregrad der Magermilch . . . . .	8,4
Säuregrad der Milch nach dem Mischen mit der Rahmschicht (berechnet) 10,2	

Der Fettgehalt des abgehoberten Rahmes betrug 24,5%. Auf das Serum berechnet, ergibt sich für die Rahmschicht ein Säuregrad von 25,1, d. h. 16,7 Grade höher als der durchschnittliche Säuregrad der Magermilch. Das ist eine Bestätigung der Schmidt'schen Befunde und zugleich eine Erklärung der bei den Lackmusmilchproben gemachten Beobachtungen. *Die Säuerung der Milch beginnt oben.*

Das bereits erwähnte Auftreten schwach ranziger Gerüche veranlasste uns, die bakteriologische Untersuchung der Rahmschicht in der Weise auszudehnen, dass wir unser Augenmerk speziell auch auf fettspaltende Organismen richteten. Solche sind schon von zahlreichen Autoren, von denen wir nur *Söhngen*<sup>54)</sup> und *Henneberg*<sup>55)</sup> anführen, aus Milch isoliert worden. Als fettspaltende Bakterien sind bekannt das *Bact. fluorescens*, *punctatum*, *alcaligenes*, *Proteus*, *prodigiosum*, *Micrococcus tetragenus*. Nach Söhngen ist die Milch ein gutes Medium für fettspaltende Bakterien.

Die bakterielle Fettspaltung beruht darauf, dass die Fette durch die von den Bakterien erzeugte Lipase in freie Fettsäuren und Glyzerin zerlegt werden. Die freien niedrigen Fettsäuren sind durch den Geruch wahrnehmbar. Vielfach wird das Glyzerin auch wieder durch Bakterien weiter vergoren, wobei Spaltprodukte entstehen, die mit den freien Fettsäuren zusammen wieder andere unangenehme Geruchsstoffe erzeugen.

*Nachweis der Fettspaltung*: Dieser beruht auf der Feststellung der gebildeten freien Fettsäuren, indem man diese entweder verseift oder durch bestimmte Indikatoren nachweist.

Wir haben vier solche Methoden auf ihre Eignung für unsere Zwecke näher untersucht.

Beim *Eijkman'schen* und *Berry'schen*<sup>56), 57)</sup> Verfahren wird die Fettspaltung durch die Verseifung der Fettsäuren sichtbar gemacht.

*Eijkman* verwendet hiefür Nierenfett, das in dünner Schicht in einer Petrischale erstarren gelassen wird. Darüber wird auf 40—45° abgekühlter Agar gegossen. Das Impfmaterial wird auf der Agaroberfläche ausgestrichen. Die durch fettspaltende Organismen erzeugten Fettsäuren verbinden sich mit den im Agar von Natur aus vorhandenen Kalksalzen zu Kalkseife, die sich durch eine weisse Trübung im Nährboden erkenntlich macht.

*Berry* empfiehlt eine Emulsion von gewöhnlichem Agar und sterilem Butterfett, die in eine Petrischale ausgegossen wird. Auf dem Nährboden werden entweder von den zu prüfenden Organismen Ausstriche hergestellt oder aber wird die zu untersuchende Milch in verschiedenen Verdünnungen der Emulsion direkt zugesetzt und diese in Platten ausgegossen. Nach einigen Tagen übergiesst man die Kulturen mit gesättigter CuSO<sub>4</sub>-Lösung. Die Fettsäuren verbinden sich zu blaugrüner Kupferseife. Die fettzersetzenden Kolonien heben sich als blaue bis blaugrüne Punkte oder Tupfen von der helleren Umgebung ab. Wir verwendeten an Stelle der Butter sterilen Rahm, der sich im flüssigen Agar leichter emulgieren lässt. Dieses Verfahren hat den Nachteil, dass die als fettzersetzend erkannten Kolonien infolge Abtötung durch das CuSO<sub>4</sub> nicht mehr näher untersucht werden können.

Bei den von *Henneberg*<sup>58)</sup> und *Collins* und *Hammer*<sup>59)</sup> angegebenen Verfahren werden die Fettsäuren mit Indikatoren festgestellt.

*Henneberg* empfiehlt die Verwendung von mit Chinablau als Indikator versetztem Wasseragar, auf den z. B. die zu untersuchende Butter ausgestrichen wird. Die Fettsäuren geben sich durch Blaufärbung zu erkennen. Für Rahmuntersuchungen ist aber dieses Verfahren nicht geeignet. Denn im Rahm findet sich noch so viel Milchzucker, dass auch vorhandene Milchsäurebakterien Säure zu bilden vermögen, wodurch ebenfalls eine Blaufärbung im Nährboden hervorgerufen wird.

Am besten eignete sich die uns erst später bekannt gewordene Methode von *Collins* und *Hammer*. Als Indikator dient Nilblausulfat, das sich im Nährboden bei Vorhandensein freier Fettsäuren intensiv blau oder blaugrün färbt. Das Nilblausulfat ist sehr alkaliempfindlich. Die Nilblaubase ist orangeröthlich. Da die meisten fettzersetzenden Organismen auch Alkali bilden, färbt sich der Nährboden zunächst orangeröthlich, in dem sich dann die blauen Kolonien der Fettzersetzer besonders deutlich abheben.

*Collins* und *Hammer* verwenden einen gewöhnlichen Bouillonagar, der mit 0,5% Butterfett und 0,01% Nilblausulfat versetzt wird. Da sich jedoch das Butterfett im Agar schwer emulgieren lässt, ersetzten wir es durch sterilen Rahm, den wir dem Agar jeweilen unmittelbar vor dem Giessen der Platten zu 3% beimengten. Nach unserer Erfahrung empfiehlt es sich, eine geeignete konzentrierte sterile Nilblausulfatlösung vorrätig zu halten und sie erst vor Gebrauch des Nährbodens zuzufügen. Wird das Nilblausulfat dem flüssigen Agar schon vor dem Abfüllen in die Nährbodengläschen zugesetzt, so erleidet es bei der fraktionierten Sterilisierung eine Veränderung. Der Agar erhält eine grünliche und nach Zusatz des

Rahmes eine graue statt blaue Farbe. Auch die Reaktion auf die Fettspaltung ist schwächer. Die Verfärbung erfolgt langsamer und bedeutend weniger intensiv.

Zum direkten Nachweis der fettspaltenden Bakterien wird die Milch in verschiedenen Verdünnungen dem Nilblausulfat-Rahmagar zugefügt. Diese Kultur wirkt elektiv. Es wachsen vorwiegend nur fettspaltende Organismen zu Kolonien aus. Milchsäurebakterien gedeihen nicht, wohl aber die Coli-aerogenes-Bakterien.

Dieses Kulturverfahren hat den grossen Vorteil, dass die interessierenden fettspalten den Kolonien weiter untersucht werden können.

Um beliebige, ab andern Nährböden isolierte Stämme auf das Fettspaltungsvermögen zu prüfen, wurden eine Anzahl der fraglichen Kolonien (meist 8—10) auf Nilblausulfat-Rahmagarplatten abgestrichen. Die Bebrütung erfolgte wie bei der direkten Aussaat bei 25—30°.

Mit Hilfe dieses Nährbodens ist es nach den zit. Autoren auch möglich, die Bakterien hinsichtlich des Diffusionsvermögens der Lipase zu unterscheiden. Die Kolonien derjenigen Organismen, deren Lipase in den Nährböden zu diffundieren vermag, sind von mehr oder weniger grossen tiefblauen Ringen umgeben.

### b) Aufbewahrung der Milch in offenen und geschlossenen Gefässen.

*Versuch 15.* Frischgemolkene Milch aus dem Betriebe G. wurde aus der Transportkanne entnommen und in die bereitstehenden 12 Aufbewahrungsgefässe abgefüllt. Sechs davon wurden sofort verschlossen, die andern leicht mit Watte bedeckt. Nachdem die Proben im Wasserbad auf 20° abgekühlt worden waren, wurden sie bei 18—20° aufgestellt. Nach 33 Stunden wurde beim Abdecken der Gefässe ein schwach adstringierender säuerlicher Geruch wahrgenommen.

Die frische Milch enthielt 27000 Keime, die den folgenden Gruppen angehörten:

Gelatine verflüssigende Stäbchen (weiss und orange)	42,0%
Alkalibildende, Gelatine nicht verflüssigende Kurzstäbchen	21,1%
Verflüssigende Kokken	21,1%
Milchsäurestreptokokken	15,8%

Nach 12, 24, 36 und 48 Stunden wurde der Rahm auf die früher beschriebene Weise abgesogen und nach gründlichem Durchmischen die Rahm- und Milchschicht auf Milchzuckeragarplatten verarbeitet. Ebenso wurde der Säuregrad bestimmt.

Tabelle 17.

Alter der Milch Std.	Art der Aufbewahrung	Säuregrad	Keimzahl	Milchsäure-Streptokokken	Mikrokokken	Alkalibildende Kurzstäbchen	Gelatine verfl. Stäbchen	Coli-aerogenes	Andere Organismen
12	Verschlossen Rahm	5,6	39 000 000	95,0	5,0	0/0	0/0	0/0	0/0
	Magermilch	7,0	57 000	96,5	3,5	—	—	—	—
	Offen Rahm	5,6	25 000 000	92,0	8,0	—	—	—	—
	Magermilch	6,9	63 000	97,0	3,0	—	—	—	—
24	Verschlossen Rahm	5,7	97 000 000	5,0	70,0	15,0	—	—	10,0
	Magermilch	7,0	2 500 000	57,1	7,2	35,7	—	—	—
	Offen Rahm	5,7	67 000 000	33,0	55,0	12,0	—	—	—
	Magermilch	6,9	2 200 000	66,6	8,3	16,8	8,3	—	—
36	Verschlossen Rahm	6,8	270 000 000	45,0	27,0	19,0	9,0	—	—
	Magermilch	7,4	40 000 000	27,0	—	13,0	13,0	47,0	—
	Offen Rahm	6,5	220 000 000	40,0	30,0	20,0	—	10,0	—
	Magermilch	7,1	40 000 000	88,0	4,0	8,0	—	—	—
48	Verschlossen Rahm	8,0	500 000 000	—	43,0	—	14,0	29,0	14,0
	Magermilch	8,5	400 000 000	92,5	—	—	—	7,5	—
	Offen Rahm	8,0	500 000 000	87,5	—	—	—	12,5	—
	Magermilch	8,0	270 000 000	100,0	—	—	—	—	—

Auffallend sind die teilweise ausserordentlich grossen Unterschiede in den Keimzahlen der Rahm- und Magermilchschicht. Je älter die Milch, um so kleiner werden die Unterschiede. Nach 12 Stunden enthielt die Rahmschicht der verschlossen aufbewahrten Milch 684, nach 24 Stunden rund 38 und nach 36 Stunden rund viermal mehr Keime als die Magermilchschicht. In der 48 Stunden alten Milch wurden im Rahm  $\frac{1}{5}$  mehr Keime gefunden.

Der Säuregrad dagegen verhält sich anscheinend gerade umgekehrt. Er war im Rahm immer niedriger als in der Milch. Bei näherer Betrachtung ergibt es sich aber, dass er im Rahm stärker zugenommen hat. So war der Säuregrad beispielsweise nach 36 Stunden um 1,2, in der Magermilch dagegen nur um 0,4 gestiegen. Ferner ist zu berücksichtigen, dass ein Teil des zur Säuregradbestimmung verwendeten Rahmvolumens durch die Fettkügelchen eingenommen wird. Der Säuregrad des Rahmserums war also effektiv noch höher. Die bereits erwähnte Geruchsveränderung konnte denn auch nur im abgehebten Rahm festgestellt werden, während die Magermilch geruchlos war. Erst nach 48 Stunden wies sie einen herb-säuerlichen Geruch auf.

Dem Verschliessen des Milchaufbewahrungsgefäßes kann auch hier kein nachteiliger Einfluss zugeschrieben werden. Die Keimzahlen des Rahmes sind bei der verschlossen und offen aufbewahrten Milch ungefähr gleich hoch. Auch im Säuregrad und in der qualitativen Zusammensetzung der Mikroflora bestehen keine oder nur unwesentliche Unterschiede.

Sowohl Rahm- als Milchschicht wiesen schon nach 12 Stunden einen hohen Prozentsatz (über 90%) an Milchsäurebakterien auf. Es waren durchwegs schwache Säurebildner. Die sehr langsame Säurezunahme in der aufgestellten Milch erklärt sich daraus. Die Milchsäurestrep tokokken wurden in der Folge hauptsächlich in der Rahmschicht vorübergehend von anderen Bakterien überflügelt. Nach 24 Stunden herrschten dort gelbe und weisse Kokken vor, die sich auch späterhin noch zu einem erheblichen Teil zu behaupten vermochten. Neu traten alkalibildende Kurzstäbchen auf. Obwohl es sich hier um ein ausgesprochen aerobes Bakterium handelt, war es in der Magermilch der verschlossenen Probe sogar stärker vertreten als im Rahm. Das ist u.E. darauf zurückzuführen, dass beim Absaugen trotz aller Sorgfalt die Rahmschicht nicht immer restlos erfasst wird. So kann bei dem bedeutend geringeren Keimgehalt der Magermilchschicht leicht eine merkliche Verschiebung in der prozentualen Zusammensetzung der Bakterienflora zustande kommen. Ausserdem vermochte wohl durch die ziemlich dünne Rahmschicht, die die Milch zufolge der verhältnismässig niedrigen Schichtung aufwies, noch so viel Sauerstoff zuzudringen, dass sich auch obligat aerobe Keime in der obersten Magermilchschicht in erheblichem Masse vermehrten.

Nach 36 Stunden war der Anteil der alkalibildenden Stäbchen noch höher, wogegen die Kokken merklich zurückgegangen waren. Zur Zeit, da

der adstringierende, säuerliche Geruch besonders deutlich verspürt werden konnte, bestand die Rahmflora der verschlossen aufbewahrten Milch aus 45% Milchsäurestreptokokken, 27% Mikrokokken, 19% alkalibildenden Kurzstäbchen und 9% Gelatine verflüssigenden Stäbchen. Eine ähnliche Zusammensetzung wies die Rahmflora der Milch in den offen gelassenen Flaschen auf.

Erst verhältnismässig spät zeigten sich zur Coli-Gruppe gehörende Organismen. Sie waren in den verschlossenen Proben der 36 und 48 Stunden alten Milch in stärkerem Masse vertreten.

Von den zur Zeit der wahrgenommenen Geruchsveränderung hauptsächlich festgestellten Bakterien verimpften wir 34 Stämme (22 Kokken, 9 alkalibildende Kurzstäbchen, 2 coli, 1 Gelatine verflüssigendes Stäbchen) auf sterilen Rahm, der in Petrischalen ausgegossen wurde, ferner 39 Milchsäure-Streptokokkenstämme auf sterile Magermilch in Reagensröhren. Nachfolgende Uebersicht orientiert über die festgestellten Gerüche:

Bakterienart	Anzahl der geprüften Stämme	Davon erzeugten:	
Mikrokokken . . . . .	13	käsigen Geruch	: 6 Stämme
		herben »	: 5 »
		Karamelgeruch	: 2 »
Tetrakokken . . . . .	9	käsigen Geruch	: 8 »
		Geruch nach saurem Most	: 1 Stamm
Alkalibildende Kurzstäbchen	9	deutlich ranzigen Geruch	: 8 Stämme
		käsigen Geruch	: 1 Stamm
Coli-Bakterien . . . . .	2	fischig-säuerlichen Geruch	: 2 Stämme
Gelatine verfl. Stäbchen . .	1	ranzigen Geruch	: 1 Stamm

Die Milchproben, die mit den 39 Streptokokkenstämmen verimpft wurden waren und von denen 2 die Milch nach 6 Tagen, 7 nach 7 Tagen, 6 nach 8 Tagen und 24 überhaupt nicht zum Gerinnen brachten, wiesen durchwegs einen angenehmen, yoghurtähnlichen, säuerlichen Geruch auf.

Bei der Prüfung nach der Eijkman'schen Methode erwiesen sich auch die orangegelben Kokken als fettzersetzend. Sie verursachten im Rahm jedoch nicht einen ranzigen, sondern einen herben Geruch.

*Keiner der hier isolierten Organismen vermochte den beim Rahm der rohen Milch festgestellten Geruch, den wir nach früheren Erörterungen als «stickig» oder «erstickt» bezeichnen, zu erzeugen. Es muss sich hier vielmehr um einen Mischgeruch handeln, der durch das Zusammenwirken zweier oder mehrerer Bakterienarten entsteht.*

*Versuch 16.* Die Milch wurde zur Zeit der Dürrfütterung aus einer Transportkanne der Sammelstelle O. entnommen und wieder in offenen und verschlossenen weithalsigen Flaschen bei 18—20° aufbewahrt. Die Temperatur der frischen Milch betrug 18°. Sie enthielt 27000 Keime, die folgenden 4 Gruppen gehörten: Mikrokokken 27%, indifferente Stäbchen 40%, Gelatine verflüssigende, zur Fluoreszensgruppe gehörende Stäbchen 6,5%, Milchsäurestreptokokken 6,5% und schwach säuernde, hantel- bis schlauchförmige, Milch koagulierende Stäbchen 20%.

Nach 18 Stunden konnte bei der verschlossenen Milchprobe erstmals ein schwacher Geruch nach flüchtigen Säuren festgestellt werden, der nach dem Umschütteln wieder verschwand. Wir wählten daher diesen Zeitpunkt zur ersten kulturellen Verarbeitung des Rahmes. Weitere bakteriologische Untersuchungen folgten nach 25, 31 und 37 Stunden.

Rahm- und Magermilchschicht weisen nach Tabelle 18 wiederum beträchtliche Unterschiede im Keimgehalt auf, die sich mit fortschreitendem Alter der Milch immer mehr ausgleichen. Sowohl nach der Zahl der Keime als auch nach ihrer Artzugehörigkeit lässt sich kein besonderer Einfluss einer der beiden Aufbewahrungsmethoden erkennen.

Tabelle 18.

Alter der Milch Std.	Art der Aufbewahrung	Keimzahl	Milchsäure- Streptokokken	Mikrokokken	Gelatine verfl. Stäbchen	Alkalibildende Kurzstäbchen	Coli- aerogenes	Andere Organismen	Fettspaltende Bakterien	Säuregrad
18	Verschlossen Rahm	1 800 000	22,0	45,5	32,5	—	—	—	25,6	5,9
	M'milch	110 000	63,5	36,5	—	—	—	—	—	6,0
	Offen Rahm	4 000 000	29,5	47,0	23,5	—	—	—	11,8	5,4
	M'milch	50 000	80,0	20,0	—	—	—	—	—	6,0
25	Verschlossen Rahm	44 000 000	25,0	31,5	27,5	12,0	—	4,0	39,0	5,9
	M'milch	640 000	95,0	1,7	1,7	—	—	1,6	—	6,0
	Offen Rahm	56 000 000	29,0	40,0	31,0	—	—	—	17,6	5,8
	M'milch	1 000 000	94,0	0,8	3,5	—	—	1,7	—	6,0
31	Verschlossen Rahm	108 000 000	31,5	28,0	18,5	12,5	3,0	6,5	15,5	5,6
	M'milch	14 000 000	97,0	0,8	1,4	—	—	0,8	—	6,2
	Offen Rahm	157 000 000	70,0	9,5	12,5	—	5,0	3,0	4,5	6,2
	M'milch	30 500 000	100,0	—	—	—	—	—	—	6,1
37	Verschlossen Rahm	680 000 000	74,0	4,5	13,5	—	8,0	—	—	8,0
	M'milch	149 000 000	98,0	0,6	1,4	—	—	—	—	6,5
	Offen Rahm	570 000 000	82,5	7,0	7,0	—	3,5	—	6,8	9,0
	M'milch	211 000 000	98,2	0,9	0,9	—	—	—	—	7,5

Was nun die Bakterienflora in den verschiedenen Zeitabständen betrifft, so herrschen im Rahm der 18 Stunden alten Milch die Kokken und Gelatine verflüssigenden Stäbchen vor, ebenso nach 25 Stunden. In den Kulturen der während 25 und 31 Stunden verschlossen aufbewahrten Milch waren auch 12% alkalibildende Kurzstäbchen vertreten. Nach 31 Stunden enthielt der Rahm im offenen Gefäß sogar doppelt soviel Milchsäurestrep tokokken als im verschlossenen. Dementsprechend verhielt sich auch der Säuregrad: im ersten Fall 5,6, im zweiten 6,2.

Wesentliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterienflora zeigen die Rahm- und Magermilchschicht. Bei der erstenen waren die aeroben Nichtsäurebildner, bei der letzteren die Milchsäurestrep tokokken vorherrschend.

Die fettzerlegenden Bakterien, zu denen hier in erster Linie die Gelatine verflüssigenden Stäbchen, dann auch die alkalibildenden Kurzstäbchen gehören, waren bei der 18 und 25 Stunden alten Milch am stärksten vertreten. Ihnen ist es wohl zuzuschreiben, dass nach 18 Stunden schon ein schwacher Geruch nach flüchtigen Säuren wahrgenommen wurde. Hierbei ist hervorzuheben, dass die Geruchsveränderung auch wieder zuerst im Rahm auftrat.

Der deutliche, bei unsren Untersuchungen meistens festgestellte adstringierende, säuerliche Geruch trat erst nach 31 Stunden auf, wobei aber der Säuregrad des Rahmes noch gar nicht gestiegen war. Es ist dies der typische Geruch, bei dessen Auftreten man die Milch gewöhnlich als «erstickt» bezeichnet und bei dem sie der Praktiker rein empirisch in ein gefährliches Stadium eintreten sieht. Der Säuregrad, der bis anhin nur unwesentlich zugenommen hatte, stieg von hier an rascher. 9 Stunden später gerann die Milch beim Kochen.

30 Stämme wurden auf sterilen Rahm verimpft. Ueber die gebildeten Gerüche gibt nachfolgende Zusammenstellung Aufschluss:

Bakterienart	Anzahl der geprüften Stämme	Davon erzeugten:
Gelat. verfl. bewegl. Stäbchen	19	Kohl-, später ranzigen Geruch : 11 Stämme nur Kohlgeruch : 4 » Estergeruch : 4 »
Alkalibildende Kurzstäbchen	4	ranzigen Geruch : 3 » Stallgeruch : 1 Stamm
Mikrokokken	12	Geruch nach saurem Most : 8 Stämme herben Geruch : 1 Stamm käsigen » : 3 Stämme
Streptokokken	3	herben » : 1 Stamm angenehmen rein säuerl. Ger. : 2 Stämme

Der typische Geruch der aufbewahrten Rohmilch wurde auch hier von keinem der isolierten Stämme erzeugt. Wohl hat es den Anschein, dass der anfänglich festgestellte mehr ranzige Geruch von den fettzersetzenden Stäbchen herrührte. Erst später (nach 31 Stunden) müssen auch die Kokken mit ihren an sauren Most erinnernden Geruchsstoffen mitbestimmend gewirkt haben.

Obwohl in den bisherigen Versuchen hauptsächlich nur solche Milchsäurestreptokokken gefunden wurden, die in Milch einen angenehmen, mehr oder weniger starken rein säuerlichen Geruch erzeugten, dürfen sie bei den Untersuchungen über das Zustandekommen des «stickigen» Geruches der Milch nicht ausser acht gelassen werden. Fast immer, wenn dieser Geruch auftrat, hatten sich auch die Milchsäurebakterien schon beträchtlich vermehrt. Es ist daher nicht ausgeschlossen, dass der meist adstringierende, säuerliche Mischgeruch durch das Zusammenwirken des von den Milchsäurebakterien erzeugten rein säuerlichen Geruches mit den von andern Bakterienarten produzierten verschiedenen Gerüchen entsteht. Darauf soll in einem späteren Kapitel näher eingetreten werden.

*Versuch 17.* Die Versuchsmilch wurde während der Grünfütterungsperiode aus dem Transportgefäß des Landwirtes B. erhoben. Die Aufbewahrung erfolgte zu ca.  $1/2$  Liter ausschliesslich in verschlossenen Flaschen, wobei 3 ganz gefüllt waren; bei 3 anderen wurde ein kleiner und bei 3 weiteren ein grosser Luftraum zwischen Milch und Flaschenverschluss gelassen.

Auf Grund der bisher gemachten Erfahrungen, wonach sich die bakteriellen Veränderungen, die zur Bildung von Geruchsstoffen führen, vor allem im Rahm abspielen, untersuchten wir diesmal nur die Rahmschicht, und zwar nach 7, 12 und 25 Stunden. Die Verarbeitung des Rahmes erfolgte auf Milchzuckeragarplatten mit Chinablau-Zusatz sowie auch auf Rahm-

agarplatten (Wasseragar mit ca. 20% sterilem Rahm gemischt). Es wurden auch der Coli-Titer und der Säuregrad bestimmt. Die Untersuchungsergebnisse sind aus Tabelle 19 ersichtlich.

Tabelle 19.

Alter der Milch Std.	Art der Aufbewahrung	Säuregrad	Keimzahl	Milchsäure-Streptokokken	Mikrokokken	Gelatine verfl. Stäbchen	Alkalibildende Kurzstäbchen	Andere Organismen	Coli-Titer	Fettspaltende Bakterien auf Rahmagar
Frisch		6,2	76 000	0/0	0/0	0/0	0/0	3,3	10	
7	Ganz gefüllt: Rahm M'milch	5,5 6,3	39 000 000	10,3	87,1	—	2,6	—	10 000	2 000 000
	3/4 gefüllt: Rahm M'milch	5,5 6,3	61 000 000	18,0	62,3	—	19,7	—	10 000	11 000 000
	1/2 gefüllt: Rahm M'milch	5,3 6,3	44 000 000	15,9	68,2	—	15,9	—	1 000 000	5 000 000
12	Ganz gefüllt: Rahm M'milch	5,3 6,0	60 000 000	41,7	56,5	1,8	—	—	1 000 000	7 000 000
	3/4 gefüllt: Rahm M'milch	5,3 6,5	95 000 000	13,3	36,7	6,7	36,6	6,7	1 000 000	15 000 000
	1/2 gefüllt: Rahm M'milch	5,7 6,5	128 000 000	9,1	54,6	4,6	22,7	9,0	1 000 000	45 000 000
25	Ganz gefüllt: Rahm M'milch	10,0 8,0	540 000 000	96,3	—	—	3,7	—	10 000 000	3 000 000
	3/4 gefüllt: Rahm M'milch	9,0 8,2	590 000 000	89,5	2,0	—	8,5	—	100 000 000	10 000 000
	1/2 gefüllt: Rahm M'milch	8,5 8,5	890 000 000	40,0	20,0	20,0	10,0	10,0	1 000 000	9 000 000

Hieraus geht hervor, dass es auch darauf ankommt, wie hoch die Milch in einem verschlossenen Gefäß aufgefüllt, bzw. wie gross der Luftraum über der Milch ist. Davon hängen der Keimgehalt des Rahmes und die qualitative Zusammensetzung der Mikroflora ab.

In der ganz gefüllten Flasche ging die Keimvermehrung langsamer vor sich als in den beiden andern Proben. In der Rahmschicht dagegen, über der sich der grösste Luftraum befand, wurden doppelt soviel Mikroorganismen festgestellt. So war es ungefähr auch bei der 25 Stunden alten Milch.

In der ganz gefüllten Flasche entwickelten sich vorwiegend die Milchsäurebakterien. In den nur zum Teil gefüllten Gefässen fanden vor allem die Kokken und die alkalibildenden Kurzstäbchen günstige Wachstumsbedingungen.

Wie aus den auf den Rahmagarplatten ermittelten Keimzahlen hervorgeht, ist bei den drei Auffüllungsarten eine deutliche Abstufung im Gehalt des Rahmes an fettspaltenden Bakterien zu erkennen. Sie gehörten grösstenteils zu den bisher fast in allen Milchproben gefundenen alkalibildenden, Gelatine nicht verflüssigenden Kurzstäbchen. Ein geringer Prozentsatz der fettspaltenden Bakterien bestand aus Gelatine verflüssigenden, beweglichen Stäbchen, wie sie auch auf den Milchzuckeragarplatten in be-

scheidenem Masse auftraten. Auf Rahm und Milch verimpft, erzeugten diese Stäbchen einen fäkalartigen Geruch.

Es ist verständlich, dass infolge der bei den drei Proben verschiedenen zusammengesetzten Bakterienflora auch deutliche Unterschiede im Geruch und Geschmack des Rahmes festgestellt werden konnten. Nach 22 Stunden z. B. wies er im ganz vollen Gefäss einen rein säuerlichen Geruch auf. In den beiden andern Gefässen war es mehr ein an Waschlappen erinnernder bis esteriger Geruch, besonders ausgesprochen in der nur halb gefüllten Flasche. Der Geschmack des Rahmes war bei Probe 1 rein säuerlich, bei 2 sozusagen unverändert, bei Probe 3 dagegen widerlich, teilweise auch bitter.

Der Säuregrad des Rahmes war während der ersten 12 Stunden in allen 3 Proben konstant geblieben. Hingegen machte sich später ein Einfluss der Zufüllungshöhe geltend. Nach 25 Stunden hatte der Rahm der ganz gefüllten Flasche die stärkste Säurezunahme erfahren. Am geringsten war sie in der halb gefüllten Flasche. Das ist eine Folge des verschieden hohen Gehaltes der beiden Rahmschichten an Milchsäurestreptokokken. Diese konnten sich im Rahm des vollen Gefäßes mehr oder weniger konkurrenzlos entwickeln, während sie hauptsächlich in Probe 3 das lebhaftere Wachstum anderer Bakterien zurückdrängte. Dafür wurden dann hier schlechte Geruchs- und Geschmacksstoffe erzeugt. Diese Milch war daher trotz des geringeren Säuregrades qualitativ minderwertiger.

Auf die Coli-aerogenes-Bakterien schienen die verschiedenen Aufbewahrungsarten weder einen fördernden noch einen hemmenden Einfluss auszuüben. Mit einer einzigen Ausnahme war ihr Anteil an der Gesamtkeimzahl so bescheiden, dass sie die Geruchserzeugung nicht entscheidend zu beeinflussen vermochten. Wie später noch gezeigt werden soll, müssen die festgestellten unangenehmen Gerüche hauptsächlich der Tätigkeit der prozentual vorherrschenden Kokken, den fettpaltenden alkalibildenden Kurzstäbchen, z. T. auch den peptonisierenden Stäbchen zugeschrieben werden.

(Fortsetzung folgt.)