

Esemplare fuori commercio per
la distribuzione agli effetti di
legge.

Misc. B-7/58

Medicina e Biologia

COLLANA DI STUDI E RICERCHE DIRETTA DA
GIANNI PETRAGNANI E ALDO BARCHIESI

ERNESTO SATTA - LUIGI MORANDI
LUIGI SATTA - DINO MOGGI

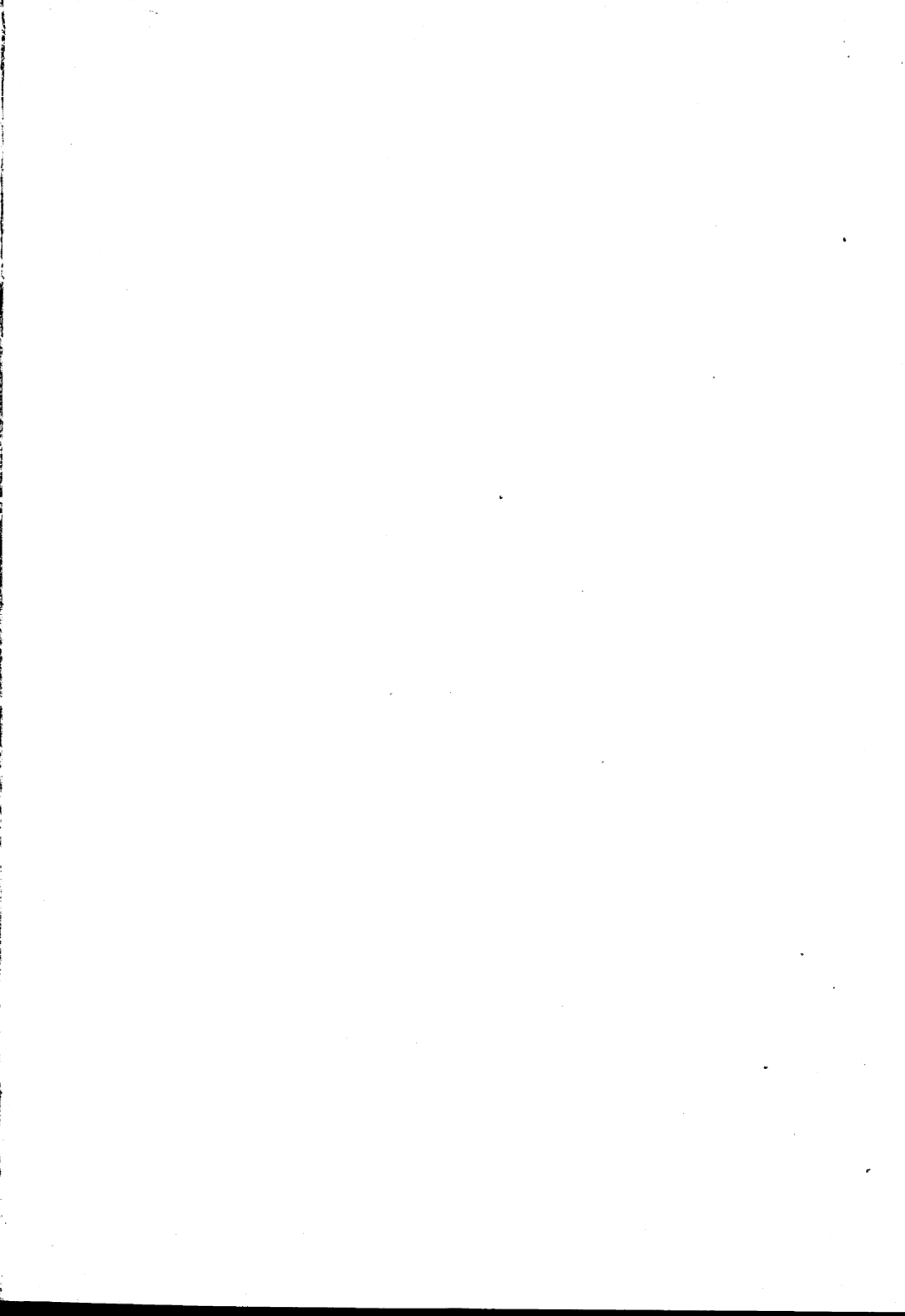


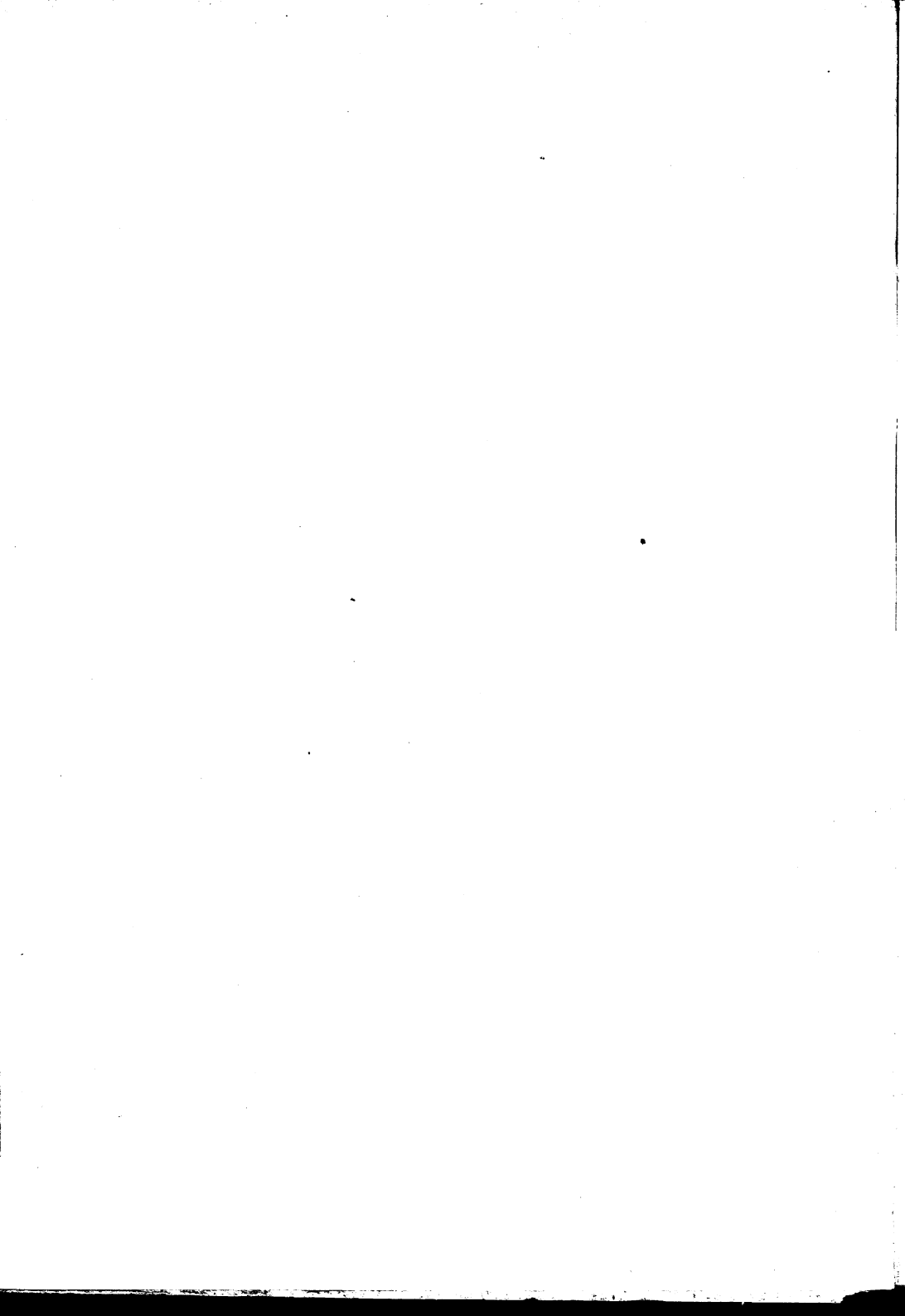
IL TRATTAMENTO IGIENICO DEL
LATTE CON ACQUA OSSIGENATA
ELETTROLITICA PURA 130 VOL.

Estratto dal volume III, 1943-XXI

SOTTO GLI AUSPICI DEL MINISTERO DELL'EDUCAZIONE NAZIONALE
E DEL MINISTERO DELL'INTERNO - DIREZ. GEN. DI SANITÀ PUBBLICA







ERNESTO SATTA
LUIGI MORANDI - LUIGI SATTA
DINO MOGGI

**Il trattamento igienico del latte
con acqua ossigenata elettrolitica
pura 130 vol.**

ESTRATTO DAL VOLUME III, 1945-XXI

ERNESTO SATTA
LUIGI MORANDI - LUIGI SATTA
DINO MOGGI

IL TRATTAMENTO IGIENICO DEL LATTE
CON ACQUA OSSIGENATA ELETTROLITICA
PURA 130 VOL.

I.

ERNESTO SATTA

DIRETTORE INC. DELL'ISTITUTO DI IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI SIENA

LA DEPURAZIONE DEL LATTE CON ACQUA
OSSIGENATA ELETTROLITICA PURA 130 VOL.

IN occasione di altre ricerche capitò alla mia osservazione il prodotto denominato « acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol. » (*).

Poiché risultava che tale prodotto all'elevato titolo unisce il sommo requisito della stabilità e della purezza, pensai di intraprendere una serie di ricerche per accertare le possibilità di impiego dell'acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol. ai fini della depurazione del latte.

Desiderando entrare in possesso della più estesa documentazione sperimentale sopra ogni lato del problema che intendevo studiare, in collaborazione con il dott. Luigi Morandi sono state svolte

(*) Tutte le ricerche sono state condotte con acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol. prodotta dalla Società Montecatini in Milano.

ricerche chimiche, mentre in collaborazione con i seguenti altri autori sono stati eseguiti speciali controlli chimici e ricerche d'indole pediatrica. Delle ricerche compiute vengono ora pubblicati i risultati, insieme a quelli da me ottenuti dal lato igienico e batteriologico.

I chimici dottori Luigi Morandi e Luigi Satta hanno illustrato le caratteristiche dell'acqua ossigenata elettrolitica pura 150 vol., precisandone i dati di composizione ed accertandone con rigore la purezza e la stabilità. Si assunsero poi il compito specifico dello studio sulla dissociabilità dell'acqua ossigenata nel latte.

Al prof. Giuseppe Bonamartini, Direttore del Laboratorio Chimico Provinciale di Firenze, ho richiesto dei controlli diretti a stabilire un eventuale attacco dell'alluminio, dello stagno e del piombo, da parte del latte ossigenato contenuto in recipienti costruiti con i metalli suddetti.

Al prof. Dino Moggi, Direttore dell'Istituto « Principessa Maria di Piemonte » per la prima infanzia in Firenze, ho chiesto di eseguire prove di alimentazione del bambino con latte ossigenato.

*
* *

Come risulta dai dati analitici, l'acqua ossigenata elettrolitica 150 vol. possiede un contenuto di H_2O_2 pari al 39 % in volume, circa il 34,5 % in peso. Alla prova di laboratorio sulla stabilità, mediante riscaldamento a 96° C. per 24 ore, accusa una perdita media soltanto del 5 % sul titolo. I saggi di purezza, sia in via analitica ordinaria, che in quella più rigorosa per via spettrografica, attestano che contiene tracce di fosfati, mentre è esente da metalli tossici. Ha reazione acida che, se espressa in H_2SO_4 , è valutata in gr. 0,09 per litro.

Numerose ricerche hanno confermato che l'acqua ossigenata possiede un elevato potere microbicida, per la prima volta dimostrato da A. Smith nel 1869. L'effetto microbicida venne attribuito alla scissione dell'acqua ossigenata con formazione di ossigeno molecolare, secondo l'equazione $2H_2O_2 = 2H_2O + O_2$. La dissociazione è opera di enzimi batterici (ecto ed endoenzimi), cui Löw [1]

diede nome di *catalasi*. Successivamente, però, veniva accertata l'esistenza, specialmente nei vegetali, di altri enzimi, chiamati *perossidasi*, i quali, invece, liberano ossigeno atomico, più attivo della forma molecolare, secondo l'equazione $H_2O_2 = H_2O + O$.

Croner [2], cui si deve un primo organico studio su l'attività battericida dell'acqua ossigenata, accertò che il potere disinfettante aumenta con il crescere della temperatura; che è maggiore quando l'acqua ossigenata ha reazione acida, restando peraltro accresciuto dall'aggiunta di acidi organici, come l'acetico, in quantità che sono di per sè inattive; che, infine, la presenza di sostanze albuminoidee nel mestruo non influisce sull'attività microbica. A risultati analoghi giunse, in Italia, Zirolia [3], stabilendo che l'acqua ossigenata al 3 % uccide rapidamente lo stafilococco ed agisce altresì sulle spore del carbonchio ematico; anche questo autore confermò l'influenza favorevole esercitata dalla presenza di piccole quantità di acidi organici (acido acetico).

Una importanza decisiva ha la temperatura di contatto, come risulta dalle esperienze di Petrovanu [4], nonchè di altri, dalle quali si apprende che la temperatura ottimale oscilla fra 44 e 52° C. Oggi è accertato che la dissociazione dell'acqua ossigenata è favorita non solo dalla temperatura, ma anche dalla luce (fotolisi). Il potere catalitico degli schizomiceti è stato studiato da molti autori. I primi lavori sull'argomento sono di Gottstein [5] e di Löwenstein [6], seguiti da altri ricercatori, fra i quali ricordo Jorns [7], Zirolia [8], Giusti [9], Pergola [10], ecc. Esso è diverso nelle varie specie microbiche, e differenze si notano pure fra i componenti della stessa specie, variando in relazione a molteplici condizioni culturali, anche in rapporto alla presenza di determinati ioni e particolarmente con il pH. Molto attivo è il *B. prodigioso*, dal quale Jorns estrasse una catalasi; inoltre le sarcine cromogene, il *Bacterium coli*, lo stafilococco aureo, il *Proteus vulgaris*, il *Bacterium fluorescens liquefaciens*, ifomiceti, blastomiceti, ecc.

L'acqua ossigenata, che il moderno indirizzo chimico-biologico ci fa considerare dotata di importanti funzioni nei processi ossido-riduttivi dell'organismo, è tossica per le cellule, le quali provvedono subito a scinderla, liberando ossigeno atomico, molto attivo,

oppure ossigeno molecolare, scarsamente attivo; l'attacco avviene secondo le equazioni prima riferite. Analogamente si devono comportare le cellule batteriche, per le quali l'acqua ossigenata è pertanto primariamente tossica; ma l'effetto battericida prevalente viene attribuito all'azione dell'ossigeno.

Oggi sappiamo che anche l'ossigeno molecolare, del quale Pasteur aveva per il primo dimostrato la capacità attenuante sulla virulenza dei virus, è dotato di azione battericida, sebbene in grado minore della forma atomica; di una sua recente applicazione proprio per il latte si parlerà più avanti. Per contro qualche autore, Rywosz [11], afferma che l'azione battericida dell'acqua ossigenata non sarebbe dovuta all'ossigeno liberatosi, in quanto avrebbe visto che i germi più dotati di potere catalitico sono anche più resistenti all'acqua ossigenata; ma tali ricerche non hanno ricevuto conferma. In realtà non è facile discriminare le due attività battericide, la primaria e la secondaria, stante che la dissociazione dell'acqua ossigenata si inizia istantaneamente con il contatto con la cellula, per cui l'effetto battericida può già conseguire alla liberazione anche di piccole quantità di ossigeno attivo.

Essendo così riconosciuta la notevole attività battericida dell'acqua ossigenata, ne venne proposto l'uso per diversi scopi: disinfezione delle mani, disinfezione in chirurgia e in odontoiatria, potabilizzazione delle acque, etc.

*
* *

Particolarmente studiata fu l'azione nel latte; e fra le numerose ricerche ricorderò quelle di Heidenhein [2], Cao [13], Huwart [14], Matislaw [15], Budde [16]. Questi autori sperimentarono con acqua ossigenata al 30 % ottenendo buoni risultati. Cao riferisce che cc. 5 di acqua ossigenata 30 % conservano incoagulato 1 litro di latte per 8 giorni, e che cc. 6-7 conservano per 30 giorni cc. 100 di latte.

Invece Huwart trovò che cc. 7 di acqua ossigenata 30 % conservano 1 litro di latte per almeno 18 ore. Secondo Matislaw si ottiene un migliore effetto quando il latte ossigenato venga riscaldato a 52°

(metodo Budde), e quando si adoperi acqua ossigenata neutra, che si decompone con maggiore facilità. Per un latte appena munto basterebbero, della soluzione 30 %, cc. 0,1 %; per un latte del commercio, cc. 0,12 %; per un latte molto inquinato, cc. 0,18, % facendo però agire sempre a 45-50°C. Much e Römer [17] studiarono il problema anche nel suo lato pratico e proposero l'aggiunta di cc. 3,3 % di acqua ossigenata 30 % al latte appena munto; si mantiene per 6-8 ore al buio, si riscalda a 52° per mezz'ora e si riporta al buio per altre 10-12 ore, quindi si aggiunge cc. 0,25 di catalasi (preparata a Marburg) per decomporre l'acqua ossigenata residua, ed il latte viene imbottigliato in vetrerie sterili. Questi autori, come si vede, usarono acqua ossigenata al 30 % ed impiegarono dosi alquanto elevate, tali in realtà da determinare innanzi tutto sensibili alterazioni dei caratteri organolettici del latte, il quale, in seguito all'aggiunta di una sufficiente quantità di acqua ossigenata, acquista, come ogni altro liquido, un caratteristico sapore metallico.

Con l'uso di così forti dosi, motivato dal modesto contenuto di H_2O_2 nel prodotto del quale si disponeva allora, il problema restava praticamente inattuabile, non soltanto a causa del costo elevato che veniva ad assumere il trattamento, ma principalmente per il fatto che con l'aggiunta dell'acqua ossigenata, specie se questa era ottenuta con il noto procedimento dal perossido di bario, si mescolavano al latte sensibili quantità di sostanze tossiche, quali arsine e composti fenolici usati come stabilizzatori del titolo. Per altro devesi rilevare che tali ricerche avevano avuto di mira la « conservazione » del latte per molti giorni, ciò che necessariamente obbligava all'aggiunta di una forte dose di acqua ossigenata, mentre non fu presa in esame, neanche in studi recenti, la possibilità di conseguire, invece, o una modesta azione antisettica sufficiente a garantire nell'alimento una bassa carica batterica per il tempo solitamente necessario allo smaltimento, o l'azione propriamente disinfettante nei confronti dei germi patogeni che più frequentemente possono riscontrarsi nel latte, risultati questi ottenibili con dosi inferiori a quelle ad effetto conservativo protratto.

Avendo attualmente a disposizione un'acqua ossigenata elettrolitica 130 vol., contenente il 39 % di H_2O_2 , di grande purezza e

stabilità, appariva di conseguenza giustificato affrontare nuovamente il problema.

L'acqua ossigenata in genere, e vieppiù quella elettrolitica 130 vol., in realtà presenta un grande interesse di ordine generale, in quanto nessun altro disinfettante, al pari di essa, sarebbe suscettibile di miglior impiego nel latte, perchè, decomponendosi in acqua e ossigeno, scompare dal mestruo senza modificarne, se la dose era congrua, la costituzione chimica fondamentale. Uno studio sulle possibilità offerte a tale scopo dall'acqua ossigenata elettrolitica 130 vol., della quale si sono rilevate le caratteristiche di purezza e di stabilità, aveva innanzi, perciò, le migliori prospettive per addivenire alla soluzione pratica del problema igienico del latte, considerato in relazione, sia alla sua conservabilità a temperatura ambiente, mantenendone a basse cifre la microflora, sia alla particolare responsabilità infettiva, che, in molte occasioni, anche recenti, è stata riconosciuta a questo nostro fondamentale alimento. Si può aggiungere che il problema non si limita al latte così detto « alimentare », da consumarsi cioè come bevanda, ma comprende anche quello detto « industriale », destinato alla produzione di latticini, quali il burro, i formaggi freschi, ecc. Di questi interessa qui rilevare la riconosciuta ed ormai largamente documentata pericolosità infettiva del burro, delle panne, dei formaggi freschi o dolci (mozzarelle, scamorze, ecc.), che non richiedono la salagione e un lungo periodo di maturazione; invece, analogo pericolo non è presentato dai latticini salati e stagionati. Il problema appare in tutta la sua estensione se si considera che in Italia, pur limitandosi agli accertamenti statistici del 1936 da parte del Comitato Nazionale del latte (18), si producono annualmente ettolitri 35.000.000 di latte vaccino ed ettolitri 5.500.000 di latte di pecora e di capra insieme; di tali quantitativi: ettolitri 14.000.000 sono destinati al consumo diretto ed il rimanente alla produzione di latticini diversi, fra cui 360.000 quintali di burro.

Si deve riconoscere che il problema igienico del latte, pur avendo registrato inconfutabili progressi dopo la introduzione del procedimento di pastorizzazione, non conosce ancora la desiderabile soluzione totalitaria, come invece è richiesto dall'interesse generale nei confronti di un alimento di tanta importanza. In definitiva,

l'esperienza acquisita dimostra che per ottenere un latte igienico, il quale, cioè, ai requisiti nutritivi, d'ordine quantitativo e qualitativo, unisca quelli essenziali di avere una bassa carica batterica e di non contenere microrganismi patogeni, da un lato è necessario controllare la produzione, acciocchè sia condotta secondo norme igieniche, dall'altro è altresì indispensabile di sottoporre il latte ad un efficiente trattamento microbicide, quindi, per riferirmi al procedimento più usato, alla pastorizzazione.

Infatti, oltre alle possibilità di inquinamento del latte dopo la mungitura, si deve tener presente che con la secrezione latteica possono essere eliminati microrganismi patogeni (*B. tubercolare*; brucelle, streptococchi) senza che nell'animale siano clinicamente apprezzabili disturbi dello stato generale o segni di malattia a carico della mammella, tali che inducano l'allevatore a far ricorso al veterinario.

Qui si vuol fare riferimento al latte comune, prescindendo dal latte crudo « certificato », il quale, invero, per essere ottenuto in condizioni igieniche eccezionali, presenta un carattere più sperimentale, che pratico. D'altra parte anche il latte crudo « certificato » non è esente da critiche, in quanto gli sono stati imputati episodi infettivi, stante la possibilità del suo inquinamento con microrganismi patogeni per mastiti clinicamente mute e che malgrado ogni più attenta organizzazione, un latte originariamente sano venga inquinato da germi patogeni dopo la mungitura. Sia in America che in Europa, come si legge anche nel Rapporto fatto nel 1937 alla Sezione d'Igiene della Società delle Nazioni dalla Commissione internazionale per lo studio del problema del latte [19], non poche epidemie furono attribuite al consumo di latte crudo « certificato », che, si noti, era talora ottenuto in condizioni di eccezionale proprietà igienica. Il pericolo è presentato non tanto dalla tubercolosi o dalle brucellosi negli animali lattiferi, per le quali malattie tornano di grande utilità diagnostica le reazioni allergiche, quanto dalla accertata frequente possibilità che con il latte, in stati di latenza clinica, siano eliminati streptococchi patogeni per l'uomo.

Il controllo sulla produzione, pertanto, non può costantemente ed in ogni caso garantire l'innocuità del latte, ma è tuttavia indispen-

sabile per ottenere un prodotto a più alto valore nutritivo e per contenere la carica batterica d'inquinamento entro i più bassi limiti.

Malgrado le accuse, in parte ingiustificate, la pastorizzazione si è sempre più diffusa; e ad essa è attribuito il merito se dalle città americane sono scomparse le epidemie che erano solitamente sostenute dal latte, mentre queste continuarono a verificarsi nei piccoli centri, dove si consuma latte comune. Anche in Italia sono stati confermati i vantaggi igienici della pastorizzazione, alla quale, ad esempio, le statistiche riferiscono la diminuzione della morbosità tifica in Milano, Brescia, Monza, ecc.

Orbene non si può dire, però, che la pastorizzazione abbia risolto completamente il problema, in quanto essa, malgrado i perfezionamenti tecnici apportati e l'esperienza acquisita, costituisce innanzi tutto un procedimento ancora abbastanza costoso, sia nelle spese di impianto industriale, quanto nella organizzazione e nel funzionamento; ed inoltre richiede un controllo continuo e ben vigilante, ad evitare che la Centrale abbia ad incorrere nel pericolo di essere una fonte improvvisa di diffusione di malattie infettive, come malauguratamente è avvenuto talvolta anche in Italia. Ed è, invero, considerando questi episodi di contagio con latte pastorizzato, che si resta perplessi anche sulle garanzie che, meglio che altrove, dovrebbero essere presentate dai grandi impianti urbani.

Ma considerando soltanto le difficoltà economiche di impianto e di organizzazione, dobbiamo notare che a queste si aggiungono quelle, non meno onerose, inerenti la refrigerazione, la quale rappresenta il complemento indispensabile della pastorizzazione, della quale deve conservare gli effetti nel tempo. Non meraviglia, perciò, che principalmente ragioni d'ordine economico abbiano impedito la diffusione del metodo di pastorizzazione ai piccoli e medi centri, restando limitata, almeno nel nostro Paese, soltanto alle città e soprattutto ai grandi centri. In Italia esistono attualmente soltanto 17 Centrali di pastorizzazione che provvedono al fabbisogno di circa 5.000.000 di abitanti. I nostri centri rurali, le piccole e medie cittadine consumano ancora latte comune, per il quale è legittimo il sospetto dell'igienista, anche se sia da supporre che a domicilio possa venire più o meno consapevolmente risanato con il riscaldamento.

Tali lacune esistono in tutti i Paesi, ma nel nostro il problema igienico del latte appare ancora aggravato dalle particolari condizioni in cui si svolge la maggior parte della produzione, alla quale, come è noto, concorre in larghissima parte il cosiddetto produttore-dettagliante, la cui attività diventa igienicamente pericolosa ove non sia adeguatamente controllata; ciò che in pratica non è facile. Il Regolamento sul latte emanato nel 1929 dalla nostra Direzione Generale della Sanità Pubblica, successivamente accresciuto di altre disposizioni, ha certamente contribuito a diminuire i pericoli connessi al latte, ma è ovvio che non era possibile eliminarli.

A me sembra che l'attenzione dei ricercatori sia stata finora piuttosto polarizzata sulla pastorizzazione, mentre, riconosciutone i limiti della sua applicabilità, in ordine a quelle che sono le stesse esigenze del problema del latte, era giustificato di nuovamente rivolgerla alla ricerca di adatte sostanze battericide, le quali, se ottemperassero ai voluti requisiti, sarebbero certamente i mezzi preferenziali per realizzare in ogni luogo e con la maggiore economia l'auspicata depurazione del latte. Secondo il mio avviso, però, l'uso dell'antisettico prescelto dovrebbe essere posto sotto il controllo dell'Autorità Sanitaria, restando così sottratto all'arbitrio del produttore o del venditore.

Una tale iniziativa, così intesa, non appare in opposizione allo spirito delle nostre leggi sanitarie, le quali, come è noto, hanno fino ad ora vietato l'aggiunta di antisettici alle sostanze alimentari.

Invero, però, sembra che anche nel nostro Paese ci si avvii ad una revisione di questo criterio, forse troppo rigidamente negativista in rapporto alle esigenze imposte dalla natura stessa del commercio delle sostanze alimentari. Infatti, in considerazione dell'attuale stato di guerra, è stata recentemente consentita l'aggiunta dell'1 % di acido salicilico o di benzoato sodico alle conserve di pomodoro; peraltro, con successivo decreto, l'aggiunta degli antif fermentativi è stata estesa ad « altri alimenti e bevande », salvo approvazione per ogni caso da parte del Ministero dell'Interno. Il problema dei conservativi sembra dunque destinato ad essere contemplato anche dalla nostra legislazione sanitaria. Nello stesso senso revisionistico si esprime anche Bertarelli [20] in un recente articolo.

Pertanto non appariva ingiustificato, anche in relazione al nuovo indirizzo che va delineandosi, di affrontare il problema della depurazione del latte mediante agenti chimici.

* * *

Con l'acqua ossigenata elettrolitica 130 vol. ho eseguito una serie di ricerche allo scopo di individuare le dosi opportune, onde con la minore si esplicasse nel latte *un'azione antisellica* e con la maggiore *un'azione disinfettante*. Con la ricerca della dose antisettica, aggiunta al momento della mungitura, si mirava a contenere nei limiti di qualche milione per cc. la carica batterica del latte, conservato per 24-36 ore alla temperatura ambiente, sia d'inverno che d'estate; invece con la dose disinfettante, anche se aggiunta diverse ore dopo la mungitura, si intendeva conseguire una marcata riduzione della carica batterica, mantenendola a cifre modeste nelle successive 24-36 ore, sempre a temperatura ambiente, nonché di uccidere contemporaneamente i germi patogeni eventualmente presenti nel latte.

Si sa che nel latte crudo esistono enzimi che scindono la molecola dell'acqua ossigenata liberando ossigeno; questa attività è svolta da una ossidasi, la *perossidasi*, e dalla *catalasi*. Il riscaldamento a 70° distrugge tali proprietà del latte. Ma alla perossidasi e catalasi proprie del latte si aggiungono in larga misura quelle elaborate da molte specie batteriche, presenti nella microflora di inquinamento, delle quali si è fatto cenno precedentemente. L'attività microbica, come era stato già visto e come si è confermato in queste ricerche, concorre notevolmente ad aumentare quello che si chiama « indice catalasico o numero di catalasi » del latte, cioè la sua diversa capacità di scindere l'acqua ossigenata.

È altresì noto che in seguito all'aggiunta di acqua ossigenata, i liquidi assumono uno speciale sapore metallico, diversamente apprezzabile a seconda della dose e della natura stessa del liquido; e ciò, nel caso specifico del latte, doveva necessariamente essere tenuto molto presente. Questo inconveniente poteva essere tuttavia agevolmente superato operando con una dose che fosse al di

là della soglia sensitiva, ma in tal caso era supponibile che sarebbe stato frustrato per lo meno l'effetto disinfettante, che mi proponevo anche di conseguire. Pertanto si imponeva l'esperimento con più dosi di acqua ossigenata 130 vol., tutte piccole ed ai limiti della normale sensibilità gustativa, dalle quali soltanto si poteva ottenere una pronta reintegrazione dei caratteri organolettici del latte insieme alla massima riduzione del costo del trattamento. Il compito sembrava facilitato considerando che in seguito alla completa dissociazione dell'acqua ossigenata, cessano le modificazioni indotte a carico dei caratteri organolettici del mestruo. Ma occorre stabilire in quale misura e con quale rapidità avvenisse la dissociazione nel latte, studiandone i fattori che la influenzano in un senso o nell'altro; ricerche a questo scopo hanno svolto i dottori Luigi Morandi e Luigi Satta. Inoltre, considerando il problema della ossigenazione del latte nel suo aspetto pratico, davo incarico al professor Giuseppe Bonamartini, Direttore del Laboratorio Chimico Provinciale in Firenze, di accertare se il latte ossigenato acquistasse proprietà aggressive nei confronti dell'alluminio, nonchè verso i metalli con i quali sono costruiti i comuni bidoni di raccolta.

D'altro canto, oltre alle ricerche batteriologiche, altre erano necessarie per stabilire se l'aggiunta dell'acqua ossigenata inducesse modificazioni a carico del contenuto vitaminico del latte, ciò che ho fatto in relazione alle vitamine A, B, C, D, cioè alle più importanti.

Infine, occorre stabilire se il latte addizionato di acqua ossigenata 130 vol. conservasse le sue prerogative nutritive, di digeribilità e di assimilabilità, da accertarsi specialmente nel bambino, per cui richiesi una serie di controlli al prof. Dino Moggi, Direttore dell'Istituto « Principessa Maria di Piemonte » per la prima infanzia in Firenze.

Una volta entrati in possesso di una così vasta documentazione sperimentale, sarebbe stato agevole affrontare il problema dal lato pratico.

RICERCHE SPERIMENTALI

Dopo diversi saggi di orientamento ho fissato l'attenzione sopra le seguenti dosi di acqua ossigenata 130 vol.: per lo studio del potere antisettico, le concentrazioni di 0,5 - 1 - 1,5 ‰; per lo studio del potere disinfettante, quelle di 2 - 2,5 - 3 ‰. Tali quantità esprimono i cmc. di acqua ossigenata 130 vol. che venivano aggiunti a 1 litro di latte; il contenuto di H_2O_2 che risultava per litro di latte, è facilmente calcolabile ricordando che l'acqua ossigenata 130 vol. contiene il 39 ‰ di H_2O_2 .

I saggi sono stati fatti con latte vaccino crudo, fornitomi da un allevatore posto nelle vicinanze dell'Istituto, ove mi veniva recapitato qualche ora dopo la mungitura. Solamente per determinati controlli, come sarà più avanti specificato, il latte è stato prelevato con vetrerie sterili. A seconda, poi, che si desiderava trattare il latte in presenza di una abbondante o scarsa microflora d'inquinamento, lo si manteneva o meno in cella a 20°C. per alcune ore, onde favorire la moltiplicazione microbica pur restando in condizioni simili a quelle della pratica; diversamente lo si teneva in frigorifero a 4°C. In ogni caso l'aggiunta dell'acqua ossigenata veniva fatta all'incirca dopo 12-15 ore dalla mungitura, ad eccezione che per le prove sul potere antisettico, per le quali l'aggiunta era effettuata subito dopo.

Prima di fare l'aggiunta di acqua ossigenata 130 vol., il latte veniva filtrato per doppia tela; quindi, addizionata l'acqua ossigenata, si ripartiva in bottiglie sterili di cc. 300, chiuse da tappo smerigliato, che si mantenevano alle seguenti temperature: 15-17°; 20-22°; 25-26°; 30-32°C.. Eseguendo le prove a tali temperature si aveva la possibilità di valutare esattamente l'efficacia del trattamento in studio, per il quale, dovendosi in pratica effettuarlo a temperatura ambiente, era necessario tener conto delle influenze esercitate dalle variazioni stagionali.

I. — SAGGI SUL POTERE ANTISETTICO.

Le ricerche sono state fatte con l'aggiunta al latte delle seguenti quantità di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol.: cc. 0,5 - 1 - 1,5 ‰. Il latte appena munto, raccolto in recipiente sterile, veniva

portato in laboratorio (la stalla ne dista 50-60 metri) e quivi, dopo aver fatto un prelevamento per accertare la carica batterica iniziale, gli si aggiungeva l'acqua ossigenata 130 vol., si ripartiva in bottiglie sterili a tappo smerigliato che si mantenevano alle seguenti temperature: 15-17°; 20-22°; 25-26°; 30-32° C. Fra la mungitura e l'addizione di acqua ossigenata non passavano più di 15'. A ciascuna serie di campioni ossigenati era unito un campione di latte normale. La quantità di ciascun campione era di cc. 50. A vario tempo dall'aggiunta dell'acqua ossigenata, entro le 40 ore successive, si procedeva a prelevamenti per la determinazione del contenuto microbico. In scatole Petri si seminava la quantità fissa di cc. 0,5 di diluizioni scalari del latte, prelevato dopo prolungata agitazione del campione. La diluizione era fatta in *acqua fontis* sterile (prima della sterilizzazione si precipitavano i bicarbonati e si filtrava), distribuita in ragione di cc. 4,5 entro grossi provettoni; nel passaggio da un tubo all'altro si cambiava, naturalmente, pipetta. Sia entro i tubi, che nelle scatole Petri, il liquido era fatto defluire dalla pipetta, senza mai soffiarvi.

Quale terrenó culturale ho adoperato l'agar 2 % allestito con estratto di carne (Acas) a pH 7 - 7,2, addizionato del 0,5 % di gelatina, che lo conserva fluido alla temperatura di 40-42° (Satta e Bragoni) (21). Incubazione a 37-28° C. per 48 ore e conta delle colonie, riferendone il numero ad 1 cc. di latte.

I risultati ottenuti sono esposti nelle Tabelle nn. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. Si nota che l'aggiunta del 0,5 % di acqua ossigenata 130 vol. al latte con una carica batterica da 4.000 fino a 122.000 germi per 1 cc. è valida a mantenere questa per 40 ore al disotto del milione, soltanto se la temperatura di contatto è di 15-17° C.; a 20-22° C., se la carica batterica di partenza è di 4-7.000 germi per cc., resta per 24 ore sotto il milione e se inizialmente era di 122.000 germi per cc., si avvicina, allo stesso periodo, ai 2 milioni; ma alle 40 ore in entrambi i casi, raggiunge diversi milioni. Nei corrispondenti campioni tenuti a 25-26° e 30-32° C. la carica batterica aumenta rapidamente e raggiunge parecchie decine di milioni per cc. dopo 24 ore a 30-32°; allo stesso periodo taluni di questi campioni coagulano spontaneamente.

Il comportamento della carica batterica nel latte con il 0,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., mantenuto fino a 40 ore a temperatura compresa fra 15° e 22° C., si mostra favorevole alla buona conservazione; invece, i campioni non ossigenati, tenuti nelle medesime condizioni, già dopo 24 ore hanno un contenuto microbico di parecchie decine di milioni, talvolta presentano segni di coagulazione incipiente, che di regola si completa poco dopo. Alla prova di ebollizione per 5' i campioni ossigenati al 0,5 ‰ e tenuti a 15-20° C. non coagulano; gli omologhi normali coagulano. Con la dose dell'1 ‰, operando sullo stesso latte che servi per i saggi con il 0,5 ‰, la carica batterica si mantiene per 24 ore al disotto del milione per cc. anche se la temperatura di contatto è di 30-32° C. Al di là di tale tempo, essa raggiunge diverse decine di milioni nei campioni mantenuti a 25-30° C, ma si conserva al disotto del milione in quelli a 15-20° C. Alle 24 ore non si è mai constatata coagulazione spontanea nei campioni ossigenati tenuti a 25-30°, osservandola invece verso la 36^a ora di contatto, sebbene non regolarmente.

Una prova più rigorosa è stata fatta con un latte avente una carica batterica di 10.500.000 germi per cc. (Tab. n. 7), che si era ottenuta dopo che il campione era rimasto diverse ore a 20-22° C. Il saggio, eseguito con 1 ‰ di acqua ossigenata, dimostra una riduzione della carica batterica a qualche milione per cc., dopo 16 ore di contatto, nei campioni tenuti a 25-30°, mentre è al disotto del milione, o pari a questo, nei campioni a 15-20° C. Dopo 24 ore i valori sono di poco superiori al milione nei campioni a 15-20°, salgono ad alcuni milioni nel campione a 25-26°, mentre si nota coagulazione parziale in quello a 30-32° C.

Dopo 36 ore, infine, la carica batterica è di alcuni milioni nei campioni a 15-20°, ma quello a 25-26° è coagulato spontaneamente. L'andamento di questo saggio, nel quale la concentrazione di 1 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., si è dimostrata provvista di azione battericida, sembra in contrasto con quelli eseguiti, nelle medesime condizioni, sopra campioni di latte con tasso microbico molto più basso, oscillante fra 4.000 e 122.000 germi per cc., poichè in questi non si è notata una azione battericida sufficiente a determinare una sensibile caduta della carica batterica; al contrario, essa è andata

aumentando. Questo diverso risultato è in relazione alla scissione dell'acqua ossigenata nel latte, che, come si è detto in principio, è condizionata alla quantità di catalasi e perossidasi presente. Entrambi gli enzimi sono largamente forniti dall'attività microbica, per cui avremo che in un latte a maggiore carica batterica si scinderà più acqua ossigenata e perciò, essendo maggiore l'ossigeno liberatosi, più marcata ne risulterà, entro certi limiti, l'azione battericida. Che diverso sia il contenuto catalasico del latte in ordine alla sua carica batterica, risulta anche da alcune prove che saranno riferite più avanti.

Infine, da un saggio con la dose dell'1,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. (Tab. n. 8) risulta che in un latte avente una carica batterica di 122.000 germi per cc., questa non giunge al mezzo milione neanche dopo 22-24 ore di esposizione a 25-30° C.

Sia questi campioni che quelli con l'1 ‰ di acqua ossigenata, non coagulano se sottoposti all'ebollizione per 5'.

L'andamento generale dei saggi sul potere antisettico, diretti a trovare una concentrazione di acqua ossigenata capace di mantenere per 24-36 ore la carica batterica del latte non superiore al milione, dimostra che tale risultato può conseguirsi alle seguenti condizioni: con il 0,5 ‰, se la t. a. è di 15-17°; con l'1 ‰, se la temperatura ambiente non oltrepassa 20-22°; con l'1,5 ‰, se la temperatura ambiente è di 25-30° C. Risulta, pertanto, che parallelamente all'aumentare della temperatura ambiente, occorre aumentare la concentrazione dell'acqua ossigenata, giungendo questa fino all'1,5 ‰.

Si osserva, infatti, che a misura che aumenta la temperatura di esposizione, minore è l'effetto antisettico nel latte ossigenato. Ciò sembra in contrasto con il fatto che la dissociazione dell'acqua ossigenata aumenta con il crescere della temperatura, per cui proporzionalmente deve crescere il suo potere microbicida (la dissociazione dell'acqua ossigenata 130 vol. nel latte, in ordine alla temperatura, è illustrata dalle ampie ricerche di Luigi Morandi e di Luigi Satta). Si deve però ricordare che la dissociazione dell'acqua ossigenata non è istantanea, per cui, essendo la temperatura favorevole alla moltiplicazione microbica e non essendosi ancora dissociata una quantità di acqua ossigenata sufficiente all'effetto battericida in

tali condizioni, la microflora del latte aumenta raggiungendo in breve cifre elevate, sebbene sempre molto al disotto di quelle che, a parità di tempo e di temperatura, si riscontrano nei campioni di latte normale, i quali, perciò, vanno incontro ad una più precoce coagulazione spontanea. L'effetto antisettico, in definitiva, è subordinato al rapporto che dovrà stabilirsi nel latte ossigenato, fra velocità di dissociazione dell'acqua ossigenata e velocità della moltiplicazione microbica; il risultato sarà favorevole quando nel rapporto prevale necessariamente il primo termine. Da ciò deriva che quanto minore è la stabilità dell'acqua ossigenata tanto più è necessario farla agire a bassa temperatura, acciocchè essa si dissocia lentamente e per più lungo tempo si esplicino i suoi effetti; inversamente, se più alta è la stabilità, si potrà mantenere il latte anche a temperatura favorevole allo sviluppo microbico, senza che la carica batterica salga ad alte cifre, poichè in tal caso la dissociazione dell'acqua ossigenata procederà con minore rapidità.

Ma altri elementi di giudizio sull'attività dell'acqua ossigenata elettrolitica 130 vol., sono emersi dai saggi sul potere disinfettante, che ora passo ad esporre.

II. — SAGGI SUL POTERE DISINFETTANTE.

a) *Riduzione della carica batterica.*

I controlli sulla carica batterica del latte sono stati fatti riguardo alle seguenti concentrazioni di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol.: cc. 2-2,5-3 ‰. Prima dell'aggiunta di acqua ossigenata, il latte veniva filtrato per doppia tela onde liberarlo dal sudiciume. Effettuata l'aggiunta, si ripartivano i campioni in bottiglie sterili (per una prova si adoperarono vetri non sterili), chiuse da tappo smerigliato, che si portavano alle temperature di 15-17°; 20-22°; 25-26°; 30-32° C. Ciascuna serie di campioni ossigenati comprendeva anche un campione controllo di latte normale. La quantità di ogni campione era di cc. 50.

La tecnica seguita per la determinazione della carica batterica, sia prima che dopo l'aggiunta di acqua ossigenata, è quella già esposta a proposito dei saggi sul potere antisettico. Si è operato su cam-

pioni di latte a vario contenuto microbico, solitamente realizzato favorendo la moltiplicazione della microflora preesistente con il tenere il campione alcune ore a 20-22° C., oppure mediante l'aggiunta, come si legge nelle rispettive tabelle, di una carica di *Bacterium coli*. In un campione l'inquinamento di *Bacterium coli* risultò notevolissimo, avendosi una carica batterica totale di parecchi miliardi per cc., come in pratica non è mai dato di osservare nel latte.

Ordinariamente si saggiavano comparativamente le tre dosi di acqua ossigenata sullo stesso campione di latte e nei confronti di una sola delle quattro temperature prese in considerazione. In qualche prova, invece, una stessa dose d'acqua ossigenata è stata saggiata alle quattro temperature. Pertanto si era nelle condizioni di giudicare con esattezza l'effetto microbica di ciascuna dose di acqua ossigenata 130 vol., sia relativamente a gradi di inquinamento simili a quelli che si riscontrano nella pratica d'inverno o d'estate, quanto rispetto a inquinamenti molto al di là dei limiti pratici, ma che conferivano all'esperimento un maggiore rigore.

I risultati sono esposti nelle Tabelle n. 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, mentre nella Tabella n. 19 se ne riassumono le medie. Per miglior chiarezza si riferiscono i risultati partitamente per ciascuna temperatura di contatto.

Riduzione della carica batterica a 15-17° C. -- I protocolli riportano le variazioni della carica batterica in campioni di latte che avevano un contenuto microbico da un minimo di 1.500.000 germi per cc. ad un massimo di 56.000.000, mantenuti in osservazione fino a 40 ore a temperatura ambiente di 15-17°. Premesso che il potere microbica aumenta, come è naturale, con il crescere della dose di acqua ossigenata, si rileva che anche l'aggiunta del 2 ‰ è sufficiente a mantenere la carica batterica al disotto del milione per cc. fino a 32-36 ore di contatto, mentre si avvicina a tale valore, ma soltanto in qualche campione, verso le 40 ore. Con le dosi maggiori, la carica batterica non oltrepassa mai il milione per cc. neanche dopo 40 ore dall'aggiunta, malgrado che quella iniziale sia di oltre una diecina di milioni. Le percentuali medie di riduzione della carica batterica decorrono come segue:

- a) con il 2 ‰ si registra circa il 65 % già dopo 1 ora dall'aggiunta; è del 98,77 % dopo 4 ore; tocca il massimo di 99,82 % dopo 22 ore; indi discende lentamente ma è ancora del 85,33 % dopo 40 ore;
- b) con il 2,5 ‰ la riduzione percentuale è di quasi il 72 % dopo la prima ora; sale rapidamente in seguito e tocca il massimo del 99,88 % dopo 22 ore; si mantiene a circa il 93 % ancora dopo 32 ore; discende a 88,76 % alle 40 ore;
- c) con il 3 ‰ la riduzione si inizia dopo 1 ora con valori di circa il 73 %; raggiunge poco dopo valori intorno al 98-99 ‰, è ancora del 96 % dopo 32 ore e del 93 % dopo 40 ore.

Riduzione della carica batterica a 20-22° C. — Anche in queste prove si riscontra che la carica batterica accusa una marcata riduzione: con la dose del 2 ‰ la riduzione è di circa il 96 % dopo 15 ore; sale al 98,64 % alle 22 ore e discende al 65,27 % dopo 40 ore; con il 2,5 ‰ si registra più del 98 % dopo 15 ore, il 99,76 % alle 22 ore e il 76,48 % alle 40 ore; infine, con la dose del 3 ‰ la riduzione è del 98,80 % dopo 15 ore; di 99,79 % dopo 22 ore e discende a 85,38 % dopo 40 ore.

Riduzione della carica batterica a 25-26° C. — Le variazioni della carica batterica, espresse dalle percentuali medie di riduzione, a tale temperatura si mantengono entro i seguenti limiti: con il 2 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., dopo 15 ore la riduzione è del 94,40 %, sale a 96,46 % dopo 22 ore, permane del 51,28 % dopo 40 ore; con la dose del 2,5 ‰ di acqua ossigenata, la riduzione è del 98 % alle 15 ore, circa il 99 % alle 22 ore, discende a 70,15 % alle 40 ore; infine, con la dose del 3 ‰ la riduzione è del 99,39 % dopo 15 ore, del 99,88 % alle 22 ore, del 80,28 % dopo 40 ore.

Riduzione della carica batterica a 30-32° C. — Con la dose del 2 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. la carica batterica del latte si riduce in ragione del 96 % alla 15^a ora, raggiungendo così il massimo valore, indi discende progressivamente: alle 24 ore la riduzione è del 90 %, alle 30 ore di poco più del 70 % ed alle 40 ore è del 38,39 %. Analogo decorso, ma con valori proporzionalmente più alti, si osserva anche con la dose del 2,5 ‰: dopo 10 ore la riduzione è di

circa il 98 %, alle 24 ore si tocca il 99,56 %, alle 40 ore è discesa al 65,34 %. Infine con la dose del 3‰ abbiamo che la riduzione è alla decima ora del 99,43 %, alle 22 ore sale al 99,96 %, cala al 70,58 % alle 40 ore.

Se esaminiamo i valori assoluti della carica batterica nel latte ossigenato al 2-2,5-3‰, mantenuto a varie condizioni di temperatura, si nota quanto segue: ad una temperatura di contatto compresa fra 15° e 30° C. la carica batterica del latte, inizialmente intorno ai 10-15.000.000 per cc., è di poche migliaia dopo 24 ore dall'aggiunta dell'acqua ossigenata 130 vol. nelle dosi sperimentate; al di là delle 24 ore, si registra una moltiplicazione microbica, tanto più rapida quanto più favorevole è la temperatura e minore è la quantità di acqua ossigenata, di guisa che la carica microbica risale, ma tuttavia, dopo 40 ore, non oltrepassa la metà della cifra iniziale.

Le prove eseguite con le dosi del 2‰ e del 3‰ nei confronti delle quattro temperature prese in considerazione (Tabelle n. 13,17, 18) ci illustrano ulteriormente il potere microbicida spiegato da tali dosi. Si nota che anche la dose del 2‰, la minore fra quelle cimentate, è sufficiente a contenere in limiti veramente modesti la carica batterica nelle prime 24 ore dall'aggiunta, qualunque sia la temperatura; oltrepassato tale termine, il contenuto microbico aumenta giungendo alle 40 ore, ma soltanto nei campioni tenuti alle temperature più alte, intorno ai 2.000.000 per cc., la qual cifra, nell'esempio cui ci si riferisce, rappresenta i 2/3 della carica iniziale.

Con la dose del 3‰, aggiunta ad un latte avente inizialmente 760.000 germi per cc. si è visto che la carica batterica, dopo 40 ore, era solamente di alcune centinaia di unità. L'effetto microbicida di questa dose è ancora illustrato da una prova eccezionale su un latte, nel quale, mediante aggiunta di una notevole quantità di *Bacterium coli*, si era portata la carica batterica ad oltre 50 miliardi per cc. In questo saggio si riscontrava che dopo 15 ore il contenuto batterico era disceso al disotto del milione per cc. nei campioni tenuti a 20-22 °; in quelli a 30-32° i valori erano discesi rispettivamente a 2 e a 8 milioni per cc. Alle 24 ore le cifre vanno da un minimo di 2 milioni

(campione a $15-17^{\circ}$), ad un massimò di poco oltre 13 milioni per cc. (campione a $30-32^{\circ}$).

Come nelle prove sul potere antisettico, si riscontra in questi saggi che le variazioni della carica batterica nel latte ossigenato sono direttamente influenzate dalla temperatura di esposizione. Anche con la dose maggiore di acqua ossigenata 130 vol., cioè il 3‰, si nota per uno stesso latte che nei campioni tenuti a $25-26^{\circ}$ e a $30-32^{\circ}$ la carica batterica è maggiore di quella presente nei campioni a $15-17^{\circ}$ e a $20-22^{\circ}$ C. Alle temperature maggiori, quindi, la microflora accusa una minore riduzione, sebbene sempre notevole rispetto alla carica iniziale del latte.

Questo comportamento, come prima si accennava, è verosimilmente in rapporto a diversi fattori: velocità dissociativa dell'acqua ossigenata; presenza di specie batteriche meno sensibili all'azione della stessa acqua ossigenata; moltiplicazione della microflora già nelle prime ore di contatto, quando la dissociazione dell'acqua ossigenata è ancora insufficiente per un apprezzabile effetto battericida. Convien ora accennare alla sorte del latte ossigenato, dopo superati i limiti di osservazione entro i quali si sono svolte le prove testè riferite. Al di là delle 40 ore, i campioni che riceveranno il 2‰ di acqua ossigenata 130 vol., tenuti a 25° e a 30° , solitamente coagulano dopo una diecina di ore, cioè complessivamente dopo 50 ore; più tardi, invece, verso le 60 ore, i campioni a 15° e a 20° . Con le dosi del 2,5 e del 3‰ la coagulazione interviene dopo tempi diversi, a seconda della temperatura di esposizione: dopo 70-75 ore nei campioni a 25° e a 30° , oltre le 96 ore in quelli a $15-17^{\circ}$ C. Necessariamente questi limiti di tempo non possono avere significato assoluto, stante che la serbevolezza del latte ossigenato è in relazione alla carica batterica iniziale e residua, sia in senso quantitativo che qualitativo, nonchè alla temperatura di esposizione: se questa è di 15° o di 20° la conservazione del latte sarà assicurata per più lungo tempo, che se è mantenuto a 25° o 30° . In relazione, però, alla serbevolezza del latte ossigenato, è opportuno accennare alla carica batterica residua.

b) *Carica batterica residua nel latte con il 2-2,5-3 ‰
di acqua ossigenata 130 vol.*

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

La microflora sopravvivenente dopo 30-40 ore nel latte ossigenato è costituita da poche specie, solitamente non più di 2-3, sia nei campioni tenuti a 15-17°, che in quelli a 30-32°C. Fra tali specie si trovano più frequentemente le sarcine (*Sarcina alba*, *Sarcina lutea*, *Sarcina aurantiaca*); raramente le forme bacillari, ordinariamente lunghe e disposte in catene, riconducibili alle specie acidificanti proprie del latte; infine si notano, talvolta, qualche muffa e qualche sporigeno.

Alla carica batterica residua è dovuta la coagulazione del latte ossigenato, una volta che siano superati i limiti di attività della dose di acqua ossigenata aggiunta. Le osservazioni compiute inducono peraltro a ritenere che alla coagulazione del latte ossigenato concorrano anche enzimi presamigeni liberatisi dalle cellule batteriche morte (*Bacterium coli*, lactobatteri, ecc.). La coagulazione avviene in presenza di modica acidità, con formazione di coagulo molle, scarsamente sierificante; non si è mai notata produzione di gas, proteolisi del coagulo o fenomeni di indole putrefattiva.

Ai fini, tuttavia, di stabilire se in seguito alla selezione operata dall'acqua ossigenata, taluna delle specie batteriche sopravvissute producesse sostanze a carattere tossico, è stato fatto un controllo sul topo bianco, sia per via parenterale che per via orale. Ad alcuni topolini è iniettato per via peritoneale cc. 1 di latte ossigenato al 2 ‰, dopo 36 ore di permanenza a 15-20-25-30°C.: per ciascun campione vengono iniettati due topolini. Parallelamente, ad altri animali vengono dati in pasto gli stessi campioni di latte, somministrato in zuppa di pane, assegnando cc. 50 di latte per animale (fino a consumazione il campione è tenuto in frigorifero). Sia per via parenterale, come per via enterica, il latte non si è dimostrato capace di dar luogo a fenomeni tossici, e gli animali sono sopravvissuti in stato di buona salute.

c) *Potere disinfettante del 2-2,5-3 ‰ di acqua
ossigenata 130 vol. nel latte.*

Con queste prove è stato determinato il tempo di sopravvivenza nel latte ossigenato, mantenuto in varie condizioni di temperatura, delle principali specie patogene che possono trovarsi nel latte vaccino, dando la preferenza, naturalmente, a quelle dotate di maggiore resistenza. Il saggio, nei confronti dei patogeni intestinali, è stato preceduto da quello sul *Bacterium coli*, che, come è noto, di questi è più resistente.

I germi patogeni presi in considerazione, prescindendo dal *Bacterium coli*, sono i seguenti: *Salmonella typhi*; *Brucella melitensis* e *Brucella abortus*; *B. tubercolare*, tipo bovino.

SAGGIO SUL *BACTERIUM COLI*.

Una miscela di *Bacterium coli*, ceppi Brandaglia e Pellegrini, ottenuta da sospensione di agar-culture di 24 ore, viene aggiunta al latte vaccino crudo, 3-4 ore dopo la mungitura, previa filtrazione per doppia tela. La carica di *B. coli* aggiunta è di 30.000 unità per cc. di latte (valutazione con l'opacimetro Wellcome). Si ripartiscono i campioni, si aggiungono le varie dosi di acqua ossigenata 130 vol., si distribuisce in bottiglie sterili a tappo smerigliato e si portano alle temperature: 20-22°; 30-32° C. Ogni campione è di cc. 50. A ciascuna serie di campioni ossigenati è unito un campione non ossigenato di controllo.

A tempi determinati si prelevano cc. 10 di latte, che si distribuiscono in palloncini contenenti cc. 100 di brodo estratto di carne; successivamente si aggiungono cc. 8 di lattosio 20 % soluz. sterile e cc. 2 di bleu vittoria 4R, soluzione 0,2 ‰. Con tale tecnica si faceva la ricerca del *Bacterium coli* in cc. 10 di latte, seguendo sostanzialmente la metodica proposta da Neri per le acque, pur non impiegando gli speciali tubi a Y, dei quali non disponevo. All'impossibilità di eliminare l'antisettico nella quantità di latte seminata, ciò che mi avrebbe consentito di fare la ricerca del germe anche in maggiori quantità, si è rimediato con la diluizione in una

grande massa di terreno culturale, nel quale l'acqua ossigenata residua finiva per trovarsi in una concentrazione praticamente senza effetto battericida, tenuto conto anche della presenza di molte sostanze organiche, di cui è nota l'avidità per l'ossigeno. La presenza del bleu Vittoria in ragione di 1 : 300.000 assicurava un'azione batteriostatica nei confronti dei germi associati.

Dopo 24-36 ore di incubazione a 37-38° C., si è proceduto a semine di isolamento in piastre di agar di Wurtz e quindi alla identificazione. Dai risultati, esposti nella Tabella 21, emerge quanto segue:

a) a 20-22° C., il *B. coli* è assente in cc. 10 di latte per opera del 2 ‰ dopo ore 9; dopo ore 5 per opera del 2,5 e del 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol.;

b) a 30-32° C., il *B. coli* non è dimostrabile dopo ore 10 per il 2 ‰, e dopo ore 6 per le dosi del 2,5 e del 3 ‰.

Si rileva perciò che il *Bacterium coli* sopravvive per più lungo tempo nei campioni ossigenati mantenuti a 30-32°, ciò che è dovuto alla moltiplicazione del germe nel latte nelle prime ore di esposizione a detta temperatura, secondo quanto si è già accennato precedentemente sulla riduzione della carica batterica.

Saggio sulla Salmonella typhi

(Tabella n. 22).

Da agar-culture di 24 ore dei ceppi Ty. Casciano e Ty. 2, si allestisce una sospensione mista, che si aggiunge al latte, previamente filtrato per tela, in ragione di 15.000.000 di unità per cc. di latte (valutazione all'opacimetro Wellcome). Si rimescola, si fraziona, si aggiungono le singole dosi di acqua ossigenata 130 vol., e si ripartisce, nella quantità di cc. 50, in bottiglie sterili, che si portano alle quattro temperature di esposizione. A ciascuna serie ossigenata è unito un campione di latte normale di controllo.

Dopo tempi determinati si prelevano cc. 5 da ciascun campione e si scaricano in palloncini contenenti cc. 50 di brodo Müller-Kauffmann; da questo, dopo 24 ore di incubazione a 37-38° C., si procede all'isolamento su piastra di agar di Wurtz, perfezionando l'identificazione, nei casi dubbi, con la prova di agglutinazione sul vetrino.

Anche in tale caso la diluizione subita dall'acqua ossigenata residua nella quantità di latte seminato, lasciava sperare che l'effetto battericida non avrebbe continuato durante l'incubazione.

I risultati, riassunti nella tabella n. 22, sono i seguenti: a 15-17° la *S. typhi* non è più dimostrabile in cc. 5 di latte dopo ore 8 nel campione con il 2 ‰ di acqua ossigenata; dopo ore 4 nei campioni con le dosi 2,5 e 3 ‰; a 20-22° i risultati non mutano; a 25-26°, come a 30-32°, la dose del 2 ‰ dimostra la stessa azione e con quelle maggiori si nota che la *S. typhi* è assente dopo 5 ore. Anche in queste prove si riscontra che il tempo di sopravvivenza è maggiore nei campioni tenuti a 25° e a 30°, ma tuttavia è minore rispetto a quello del *Bacterium coli* nelle stesse condizioni; e ciò, invero, non può meravigliare, se si considera che il *Bacterium coli* è culturalmente meno esigente della *S. typhi*, per cui nel latte riesce a moltiplicarsi maggiormente.

Avendo fatto i saggi di battericidia nei confronti del *B. coli*, completati da quelli sulla *S. typhi*, non si è stimato necessario fare analoghe prove sopra altri germi intestinali, come i paratifi e i dissenterici e il colera, poichè sono meno resistenti all'azione dei disinfettanti comuni.

Saggio sulle Brucelle « melitensis » e « abortus »

(Tabella n. 23).

Da agar culture di 48 ore di sviluppo si allestisce una sospensione mista dei ceppi *Brucella melitensis* n. 1 e *Brucella abortus* n. 1, che si aggiunge ad un campione di latte vaccino sterilizzato per tindalizzazione, in ragione di 30.000.000 di unità per 1 cc. di latte (valutazione all'opacimetro Wellcome). Si rimescola, si fraziona, si aggiungono le varie dosi di acqua ossigenata 130 vol. e si ripartisce in bottiglie sterili che si tengono le une a 18-20°, le altre a 30-32° C. Ai campioni ossigenati si unisce un campione normale di controllo. Ogni campione risulta di cc. 50 di latte.

Dopo tempi determinati si prelevano cc. 5 di latte per scaricarli in palloncini contenenti cc. 50 di infuso di fegato alla Stafseth, che si tengono per 48 ore a 37°; indi si procede alla semina in piastre di agar fegato, all'isolamento e identificazione.

È risultato che alle due temperature di esposizione, anche con la dose minore di acqua ossigenata, cioè il 2 ‰, le *Brucelle* non sono dimostrabili in cc. 5 di latte già dopo 30' dall'aggiunta.

Non si è fatto il saggio in latte crudo a motivo delle esigenze culturali del germe, che avrebbero reso meno facile il suo isolamento. D'altronde non se ne ravvisava l'opportunità, sia perchè era stato già fatto il saggio nei confronti del *Bacterium coli*, il quale è più resistente, sia perchè si doveva fare quello contro il *B. tubercolare*, il più resistente fra i patogeni che più frequentemente possono trovarsi nel latte (il reperto del Bacillo del carbonchio ematico è meno frequente).

Saggio sul B. tubercolare, tipo bovino.

(Tabella n. 24).

Ad un litro di latte crudo vaccino, filtrato per doppia tela, avente una carica batterica di 15.000.000 di germi per cc., si aggiunge mgr. 1 di patina umida di B. K. Vallée, di 30 giorni di sviluppo su patata. Alla bilancia di precisione si pesa una certa quantità di patina, staccata senza asportare terreno, e si scarica entro un mortaio di agata sterile; si aggiunge qualche frammento di tuorlo d'uovo coagulato, si mesta mentre si fa cadere lentamente un volume noto di liquido di Sauton sterile. Si dispone così di una sospensione, avente nell'unità di volume una nota quantità di patina emulsionata finemente.

Il latte tubercolizzato viene rimescolato e ripartito opportunamente per addizionarvi l'acqua ossigenata nelle tre dosi note; quindi si distribuisce in bottiglie sterili, che insieme ad un campione normale di controllo, sono mantenute alle quattro temperature di esposizione. Ogni campione risulta di cc. 50.

Dopo tempi diversi si procede al prelevamento di cc. 5 di latte che si scaricano in provettoni contenenti cc. 5 di una soluzione sterile di NaOH al 10 ‰; si agita e si porta in termostato a 37–38° per 45', indi si aggiunge qualche goccia di tintura di tornasole sterile e si neutralizza con HCl 20 ‰ sterile. La semina è fatta subito dopo in 4 tubi di terreno Petragnani glicerinato, in ragione di cc. 0,6 per tubo. Per ogni campione, e per ciascun prelevamento,

sono stati seminati 4 tubi di terreno. I tubi seminati sono tenuti inclinati per 3-4 giorni in termostato e, non appena evaporato il velo liquido disteso sulla superficie, vengono chiusi da tappo sterile di sughero. Malgrado il prolungato contatto con la soda, qualche tubo risultava inquinato. La lettura è stata fatta dopo 40 giorni di incubazione a 37-38° C.

Tenendo rigorosamente conto anche dello sviluppo di una sola colonia nella serie di tubi seminati, dai risultati esposti nella tabella 24 si deduce: il *B. tubercolare* è assente in cc. 5 di latte dopo 30 ore nei campioni con il 2 ‰ e dopo 25 ore in quelli con il 2,5 e il 3 ‰, gli uni e gli altri mantenuti a 15-17° C.; i risultati non mutano nei campioni a 20-22° C.; la sopravvivenza cessa alle 25 ore nei campioni con il 2 e il 2,5 ‰, alle 20 ore in quello con il 3 ‰, quando la temperatura di esposizione è di 25-26° C.; infine, a 30-32° si osserva che il *B. tubercolare* non è più dimostrabile dopo 20 ore con le dosi di 2 e 2,5 ‰, dopo 15 ore con la dose del 3 ‰.

L'andamento generale della prova dimostra che il potere battericida dell'acqua ossigenata 130 vol., nei confronti del *B. tubercolare* tipo bovino (ceppo Vallée), aumenta con il crescere della temperatura cui è esposto il latte. Il potere microbicida, pertanto, si svolge secondo la dissociazione dell'acqua ossigenata, che aumenta in ordine alla temperatura. Esso in questo caso, a differenza di quanto si è notato nelle prove precedenti sul *Bacterium coli* e sulla *Salmonella typhi* nonché nei saggi sulla riduzione della carica batterica, non è mascherato da una pronta moltiplicazione microbica, stante che il *B. tubercolare* nel latte non deve trovare verosimilmente condizioni favorevoli ad un rapido sviluppo. Ciò appare peraltro convalidato dalle note esigenze culturali possedute dal *B. tubercolare*.

Ho considerato positivo il reperto anche quando si era avuto sviluppo di una sola colonia nell'insieme di 2-3-4 tubi di cultura. Nella Tabella, però, ho notato il numero delle colonie contate nell'insieme dei tubi letti, ciò che mi è sembrato opportuno per un giudizio di maggiore esattezza sull'efficacia del metodo in studio e di migliore approssimazione alle condizioni pratiche. Conviene tuttavia ricordare che il *B. tubercolare* si trova nel latte in quan-

tità sempre molto piccole, come è dato di leggere anche nel già citato *Rapporto della Commissione internazionale della Società delle Nazioni*, per cui è da ritenere che il saggio sopra un latte contenente mgr. 1 di patina tubercolare per litro, sia una condizione estrema di inquinamento, che in pratica non si avvera. È ovvio che si intende riferirsi ai casi di mastite tubercolare clinicamente muta o senza una sintomatologia che richiami l'attenzione dell'allevatore e lo induca a chiedere l'intervento del veterinario, che sono appunto i casi più frequenti della pratica, mentre si fa esclusione di quelli con mastite tubercolare evolutiva, con infiltrazione più o meno estesa, poichè allora la secrezione lattea si arresta.

Orbene, tenendo conto del numero di colonie sviluppatesi e del numero di tubi seminati e letti, nonchè della quantità di latte sulla quale si è fatta la ricerca, sembra legittimo di trascurare taluni reperti di positività determinati da una o poche colonie, la cui presenza ha invero molto minore importanza in un latte inquinato da così grandi quantità di *B. tubercolare*. Di conseguenza si può legittimamente considerare più brevi i tempi di battericidia fissandoli come segue: a 15-17° ore 20 con la dose 2 ‰ di acqua ossigenata, ore 15 con le dosi maggiori; a 20-22° i tempi restano immutati; a 25-26° ore 15 con la dose del 2 ‰ ed ore 10 per le dosi 2,5 e 3 ‰; a 30-32° i tempi di sopravvivenza sono uguali.

L'acqua ossigenata pura 130 vol. alle dosi di 2-2,5-3 ‰ è dunque capace non soltanto di ridurre a cifre assai basse la carica batterica, ma di uccidere dopo vario tempo anche i germi patogeni più resistenti eventualmente presenti nel latte, come il *B. tubercolare*. Insieme all'azione battericida conviene domandarsi se l'acqua ossigenata, liberando ossigeno attivo, espliciti un'azione svelenante sui prodotti tossici di origine batterica, derivanti da una funzione vitale o da disfacimento di cellule batteriche morte. Una tale attività è in realtà ammissibile, anche in assenza di una conferma sperimentale, per il già noto potere attenuante dell'ossigeno (Pasteur) e per la nota labilità dell'equilibrio colloidale delle tossine microbiche. A me risulta da prove dirette che la tossina difterica è rapidamente svelenata dall'acqua ossigenata 130 vol.

Una siffatta azione svelenante avrebbe nel latte una grande importanza perchè assicurerebbe il completo risanamento batteriologico dell'alimento.

III. - VARIAZIONI DEL CONTENUTO VITAMINICO NEL LATTE OSSIGENATO.

Sono state fatte determinazioni nei confronti delle principali vitamine del latte: vitamine A, B₁, C, D. Per le prime tre è stato seguito il metodo chimico; per la vitamina D ho preferito il metodo biologico sul ratto.

Dosaggio della vitamina A

(Tabella n. 25).

A due campioni di latte vaccino di cc. 500 ciascuno si aggiunge il 3 % di acqua ossigenata 130 vol., e si tengono, l'uno a 20-22°, l'altro a 30-32° C., per 36 ore. Scaduto tale termine si procede alla determinazione del contenuto di vitamina A.

Analoga determinazione venne fatta in partenza sul latte normale, nonchè su altri campioni di diversa provenienza, avendosi così una serie di tre campioni normali.

Il metodo seguito nella titolazione è quello di Carr e Price, secondo Dultz (ved. « Deut. Apotek. Zeit. », 1913). La saponificazione del latte fu fatta seguendo la tecnica di Willstädt e Widt (« Zeit. physiol. Chem. », 1938, 133, 253); lettura al fotometro di Pulfrich con filtro S. 61 e cuvetta da 10 mm. Quale *standard* di riferimento è stato adoperato il *Vogan*, Merck.

I risultati, riassunti nella tabella n. 25, dimostrano che in seguito all'aggiunta del 3 % di acqua ossigenata 130 vol., si ha una lieve perdita di vitamina A (da 158 a 125 U. I. % di latte), tale che il latte può conservare la sua funzione di importante sorgente di detta vitamina. La temperatura di esposizione non ha dimostrato alcuna influenza.

Dosaggio della vitamina B₁

(Tabella n. 26).

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

Si opera, come per il dosaggio sulla vitamina A, sopra due campioni di latte vaccino, di cc. 500, addizionati del 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. La temperatura di esposizione è 20-22° e 30-32° C., alla quale i campioni sono stati tenuti per 36 ore. I controlli sono rappresentati dallo stesso latte, senza aggiunta di acqua ossigenata, e da altri due campioni di diversa provenienza. La titolazione della vitamina B₁ è stata fatta con il metodo del tiocromo in prodotti alimentari secondo Pyke (« Bioch. Journ. », 1937, 31, 1958); la lettura con un colorimetro a cellula fotoelettrica. Come *standard* di riferimento si è adoperato il *Betabion*, Merck.

Le cifre ottenute, esposte nella Tabella 26, attestano che in seguito all'aggiunta del 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. al latte vaccino, si registra una perdita di vitamina B₁, all'incirca in ragione della metà.

Come è noto, il latte vaccino ha uno scarso contenuto di vitamina B₁, ed il suo apporto al fabbisogno individuale è certamente trascurabile, se lo si confronta con quello di altri alimenti (cereali), che entrano per una larga quota nella dieta, sia del bambino, che dell'adulto.

Dosaggio della vitamina C

(Tabelle n. 27-28).

La titolazione della vitamina C è stata fatta in campioni di latte vaccino addizionati delle seguenti dosi di acqua ossigenata 130 vol.: 1-2-3 ‰, mantenuti a 15-17°; 20-22°; 25-26°; 30-32° C. Alla serie dei campioni ossigenati ne era unita un'altra di campioni normali, tenuti alle medesime temperature ed in più uno in frigorifero. Per il dosaggio mi sono servito di una soluzione al 0,1 ‰ di 2-6 diclorofenolindofenolo, secondo Tillmans e Hirsch (« Bioch. Zeit. », 1932, 230, 312), precedentemente titolata contro una soluzione nota di acido ascorbico. La lettura veniva fatta non appena compariva una debole colorazione rosa. Per la determinazione il latte

veniva dealbuminato con acido tricloroacetico, filtrato per carta asciutta, lavando più volte il filtro.

Anche nei riguardi della vitamina C, come per la B₁, si è constatata una perdita, che aumenta con il crescere della concentrazione di acqua ossigenata e che è più rapida nei campioni esposti a 25° e 30° C. Tale perdita, però, appare di minore entità, ove sia confrontata con quella accusata dai campioni normali di controllo, a parità di temperatura e di tempo. Fra questi, registra la perdita minore il campione mantenuto in frigorifero a + 4°, mentre negli altri campioni è via via maggiore a misura che aumenta la temperatura di esposizione, notandosi perciò una evidente relazione con le modificazioni indotte nel mestruo dall'attività microbica.

Il contenuto di vitamina C nel latte vaccino è notoriamente molto scarso, insufficiente al fabbisogno calcolato per il bambino, e pertanto è oggi una regola di somministrarla a parte ai bambini alimentati artificialmente, e non soltanto a questi. Nei riguardi degli adulti la presenza o meno della vitamina C nel latte non può avere alcuna importanza, considerando che in ben altra misura la introducono specialmente con le frutta.

Dosaggio della vitamina D

(Tavole n. 29-30).

Questa determinazione è stata fatta per via biologica, secondo il metodo profilattico, stante che attualmente non si dispone ancora di un metodo chimico largamente sperimentato.

Un gruppo di giovani ratti, di gr. 45-50, viene diviso in 5 lotti, comprendente ciascuno 10 animali. Quale dieta carenzante ho adoperato quella di Steenbock e Black, n. 2965.

I lotti di animali sono stati così ripartiti:

1° gruppo controllo negativo: sola dieta carenzante ed acqua *ad libitum*;

2° gruppo controllo positivo: dieta carenzante + acqua + 1 U.I. al giorno di vitamina D (*Vigantolo*, Merck);

3° gruppo controllo positivo latte: dieta carenzante impastata con latte vaccino;

4° gruppo in prova: dieta carenzante impastata con latte vaccino addizionato del 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., precedentemente mantenuto per 36 ore a 20-22° C.;

5° gruppo in prova: come al n. 4, ma con latte addizionato del 4 ‰ di acqua ossigenata 130 vol.

Della dieta carenzante si assegnano per animale gr. 25 *pro die* e di latte cc. 30, mescolati alla dieta. Ho assegnato una tale quantità di latte per animale, stante che il contenuto di vitamina D è ordinariamente di 3-4 U. I. %; di conseguenza ciascun animale riceveva con il latte 1 U. I. al giorno, cioè la quantità richiesta per l'effetto profilattico. La somministrazione della vitamina D al 2° gruppo di animali venne fatta con la cannula.

Dopo 25 giorni i ratti che hanno accusato un aumento di peso (ne viene scartato solo qualcuno) sono radiografati per accertare se a livello della linea metafisaria della tibia sia avvenuta decalcificazione e in quale grado.

Nelle Tavole 29-30 si riportano alcune positive delle radiografie. La radiografia n. 1 è di tre animali appartenenti al 1° gruppo, a sola dieta carenzante. In questi si nota una marcata decalcificazione a livello della linea metafisaria della tibia, come si verifica nei quadri tipici di rachitide sperimentale. Nelle radiografie degli animali appartenenti agli altri gruppi in prova non si apprezza alcuna modificazione nello stato di calcificazione; gli animali che ricevettero il latte ossigenato al 3 o al 4 ‰ si comportano come quelli cui fu somministrato il latte non ossigenato o la dieta carenzante integrata da 1 U. I. di vitamina D (*Vigantolo*) *pro die*.

Risulta perciò che l'aggiunta del 3 o del 4 ‰ di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol., non determina apprezzabili modificazioni del contenuto di vitamina D nel latte, anche dopo 36-40 ore di esposizione a 20-22° C.

IV. - RICERCHE COMPLEMENTARI.

Esaurite le ricerche d'indole batteriologica e quelle sul contenuto vitaminico nel latte ossigenato, si è ravvisata l'opportunità di ulteriori indagini, dirette a conoscere altri effetti dell'aggiunta dell'acqua ossigenata 130 vol., e i fattori che ne condizionano la sua azione.

A tale scopo sono state fatte innanzi tutto determinazioni sulle variazioni che subisce il pH del latte. Peraltro, considerando che l'attività battericida dell'acqua ossigenata è legata alla sua dissociazione nel latte, è sembrato utile accertare come si comporti il contenuto catalasico di questo in ordine alla temperatura e al tempo, facendo anche un saggio di battericidia in latte cotto, quindi privo di catalasi, per avere altri elementi di giudizio sopra l'attività dell'acqua ossigenata. Infine è stato accertato se nel latte ossigenato si verificano variazioni del contenuto di lattosio.

Variazioni del pH

(Tabella n. 31).

Vengono seguite al potenziometro le variazioni del pH, rispetto a quello iniziale, in campioni di latte ossigenato rispettivamente al 2-2,5-3 ‰, mantenuti per 20 ore alle quattro temperature di esposizione. I saggi sono fatti dopo ore 10-15-20 dall'aggiunta delle singole dosi di acqua ossigenata 130 vol.

È risultato che subito dopo l'aggiunta dell'acqua ossigenata il pH, inizialmente intorno a 7, discende a valori di acidità, che sono compresi fra 5 e 4,5 a seconda della dose aggiunta. Dopo 10 ore torna ai valori iniziali nei campioni con il 2 ‰ di acqua ossigenata, in misura leggermente decrescente come si procede dalla temperatura di esposizione di 15-17° a 30-32° C.; si comporta all'incirca allo stesso modo nei campioni con il 2,5 ‰; risale in misura minore nei campioni con il 3 ‰. Dopo 15 ore il pH è intorno a 7 nelle tre serie di campioni e tale rimane alle 20 ore. Lo stesso comportamento si è osservato in altri saggi.

La variazione accusata dal pH, subito dopo l'aggiunta dell'acqua ossigenata, è evidentemente in relazione con l'acidità totale del prodotto, che è di gr. 0,09 per litro, espressa in H_2SO_4 . L'acidità libera, che in tale caso è quella che interessa, è rappresentata in gran parte da acido fosforico, il quale nel latte viene pertanto progressivamente neutralizzato, come abbiamo visto in questi saggi. La neutralizzazione non è verosimilmente tutta dovuta a legami del tipo acido-base, perchè il latte, se non è in preda a processi d'indole putrefattiva, non ha solitamente reazione alcalina, bensì leg-

germente acida. È da credere pertanto che possa avvenire una unione con i gruppi NH_4 formandosi fosfato di ammonio. Qualunque sia il meccanismo che regola tale neutralizzazione, è interessante, soprattutto ai fini pratici, aver accertato che il pH, disceso in zona acida per aggiunta dell'acqua ossigenata, risale gradatamente, ma abbastanza rapidamente, ai valori della neutralità, ciò che, nel nostro caso, è avvenuto entro le prime 10-15 ore.

*Comportamento della catalasi nel latte vaccino
in ordine alla temperatura.*

(Tabella n. 32).

Come è noto, il contenuto di catalasi del latte viene espresso con quello che si chiama « indice o numero di catalasi », che rappresenta i gr. di H_2O_2 scissi da cc. 100 di latte entro un dato tempo. La titolazione dell'ossigeno liberatosi è fatta per via idodometrica, in presenza di HCl e di un eccesso di KJ , titolando l'iodio libero con iposolfito sodico $\text{N}/10$ (cc. 1 di iposolfito $\text{N}/10 = \text{gr. } 0,0017$ di H_2O_2), avendo come indicatore la salda d'amido.

Insieme alla prova principale si fa un saggio in bianco; il numero di cc. di iposolfito consumati in questo dovranno essere detratti da quello del saggio principale.

Ho operato sopra quantità di cc. 5 di latte, cui veniva aggiunta pari quantità di acqua ossigenata a 5 vol.: contatto per 2 ore a temperatura ambiente ($15-17^\circ \text{C.}$).

Da un campione di latte vaccino appena munto si preleva la quantità necessaria per il saggio sulla catalasi; il resto viene frazionato in bottiglie sterili, che si portano alle seguenti temperature: a $+4^\circ$ in frigorifero; $15-17^\circ$; $20-22^\circ$; $25-26^\circ$; $30-32^\circ \text{C.}$ Nella serie dei campioni sono fatte due determinazioni: una dopo 7 ore ed una dopo 24 ore di esposizione alle temperature sopra indicate. In confronto al valore iniziale, si nota che dopo 7 ore il numero di catalasi è aumentato in tutti i campioni. L'aumento è progressivo a misura che cresce la temperatura di esposizione, ravvisandosi in ciò una conferma del notevole apporto di catalasi da parte della microflora, come si ricordava in principio. Dopo 24 ore il numero di catalasi è ulteriormente aumentato soltanto nei campioni tenuti

in frigorifero e a 15-17°; in quello a 20-22° accusa una lieve diminuzione rispetto al precedente, e lo stesso si osserva in quello a 25-26°, che presentava segni di coagulazione, mentre quello a 30-32° è a tale epoca completamente coagulato. La discesa del numero di catalasi in questi campioni è dovuta con ogni verosimiglianza alle profonde modificazioni subite dal latte in seguito al notevole aumento che, con il favore della temperatura, accusa la carica batterica, determinandosi un abbassamento del pH a valori sempre più acidi per attacco del lattosio e conseguente formazione di acido lattico, acetico ecc., nonché un accumulo di scorie diverse derivanti dal metabolismo batterico. Si sa che la catalasi è particolarmente sensibile agli acidi, per cui è da credere che la sua perdita, nei campioni di latte esposti a temperature favorevole ad una rapida moltiplicazione microbica, consegua soprattutto all'instaurarsi di una reazione sempre più acida.

La dissociazione dell'acqua ossigenata 130 vol., nel latte mantenuto a varie temperature, è stata studiata da L. Morandi e L. Satta; tali ricerche seguono questa nota. A complemento di questi dati si può aggiungere, in base a quanto si è visto nelle determinazioni del numero di catalasi, che la riscontrata più rapida dissociazione dell'acqua ossigenata quando il latte sia mantenuto a 25° e a 30° C., trova giustificazione nell'aumento che, a tale temperatura, abbiamo visto accusare dal numero di catalasi, dovuto alla incrementata attività microbica. Da questa si origineranno, ad un certo momento, acidi organici (acido lattico, acetico, ecc.) in seguito ad attacco del lattosio, i quali, però, non sembra debbano ostacolare l'azione battericida dell'acqua ossigenata, anzi dovrebbero agevolarla, come le già citate ricerche di Jorns e Zirolia, sebbene condotte in altre condizioni, inducono a credere.

Quanto precede illustra l'importanza della catalasi ai fini della dissociazione dell'acqua ossigenata e della sua conseguente attività battericida.

Appariva ora non privo di interesse accertare quale fosse l'azione battericida dell'acqua ossigenata 130 vol., nel latte cotto, cioè in assenza di catalasi e di perossidasi, opportunamente inquinato con una specie microbica. A questo saggio si riferisce la Tabella 33. A latte sterile per tindalizzazione si aggiunge una carica di *Bacterium*

coli (ceppo Brandaglia), e il 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., si ripartisce in bottiglie sterili che si portano alle solite quattro temperature di esposizione. Il contenuto batterico è determinato mediante semina in piastre di agar, secondo la tecnica già esposta. Rispetto ai valori iniziali si è riscontrata una progressiva diminuzione della carica batterica con l'aumentare della temperatura di esposizione, ciò che da un lato conferma la maggiore dissociabilità del perossido in ordine alla temperatura, e dall'altro la maggiore disponibilità di catalasi e perossidasi nei campioni a 30-32°, perchè in essi il *Bacterium coli*, ricco di tali enzimi, ha la possibilità di moltiplicarsi in certa misura nel periodo, sia pur breve, che precede l'effetto battericida dell'acqua ossigenata, mentre va lentamente dissociandosi.

A prescindere da questa duplice possibilità è da chiedersi se l'acqua ossigenata non abbia esplicato primariamente un'azione battericida, ciò che in realtà è verosimile data la sua alta tossicità fra gli elementi cellulari.

*Variazioni del contenuto di lattosio
nel latte ossigenato*

(Tabella n. 34).

Considerando che in seguito all'aggiunta di acqua ossigenata si conserva per molto tempo nel latte una carica batterica residua, appariva indicato stabilire se la sua attività non determinasse un'usura del lattosio, sebbene fosse dato *a priori* di supporla in ogni caso di lieve entità.

Per la determinazione mi sono servito del Liquido di Fehling, facendo bollire per 6'. Il saggio veniva fatto su latte dealbuminato con l'aggiunta di qualche goccia di acido acetico; si filtra per carta asciutta.

I dati ottenuti, sia nei campioni normali, che in quelli ossigenati, gli uni e gli altri mantenuti nelle medesime condizioni, attestano che si hanno perdite trascurabili di lattosio, le quali sono tuttavia minori nel latte addizionato di acqua ossigenata. Questo comportamento appare evidentemente in relazione con la diversa carica batterica nel latte normale e nel latte ossigenato.

IL TRATTAMENTO DEL LATTE
CON ACQUA OSSIGENATA 130 VOL.
NEL SUO ASPETTO PRATICO

SCELTA DELLA DOSE DI ACQUA OSSIGENATA
ELETTROLITICA 130 VOL.

Passando ad esaminare il problema della ossigenazione del latte dal lato pratico, si deve innanzi tutto precisare quale sia lo scopo igienico che ci si prefigge di raggiungere in modo da scegliere per esso la dose più adatta di acqua ossigenata. È ovvio, infatti, che diversa sarà la quantità da aggiungere a seconda che si voglia conseguire un effetto antisettico od un effetto disinfettante.

D'altra parte, la scelta della dose di acqua ossigenata deve necessariamente restare subordinata alla essenziale considerazione di non modificare i caratteri organolettici del latte. Per questa preoccupazione, come avvertivo all'inizio di questa esposizione, ho portato la mia attenzione sulle dosi piccole di acqua ossigenata 130 vol., talchè in breve scomparisse il caratteristico sapore metallico che il latte acquista subito dopo l'aggiunta. Soltanto alcune delle dosi da me sperimentate sono avvertibili al gusto non appena vengono aggiunte al latte, ma il sapore di questo ritorna alla norma in tempo più o meno breve, come ora sarà detto.

In base ai molti assaggi da me eseguiti su latte ossigenato mantenuto a varie condizioni di temperatura e ai giudizi espressi da giovani che frequentavano l'Istituto, che di buon grado si prestavano, nei riguardi delle modificazioni del sapore nel latte ossigenato posso precisare quanto segue:

a) le dosi di cc. 0,5-1-1,5 ‰ di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol., non sono avvertibili al gusto neanche subito dopo l'aggiunta. Il sapore del latte si conserva normale in seguito, qualunque sia la temperatura di esposizione;

b) le dosi di 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., sono avvertibili in grado diverso immediatamente dopo l'aggiunta. Con la dose del 2 ‰ si hanno le più lievi alterazioni del sapore del latte non appena è effettuata l'aggiunta, ma *scompaiono totalmente dopo*

8-10 ore, qualunque sia la temperatura di contatto fra quelle da me prese in considerazione. Nel latte con il 2,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., il sapore è reintegrato dopo 15 ore; dopo 18-20 ore in quello con il 3 ‰.

È superfluo avvertire che il ritorno del sapore alla norma non significa che nel latte è scomparsa l'acqua ossigenata. Le titolazioni dell' H_2O_2 fatte da L. Morandi e da L. Satta, nel latte addizionato del 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata, ci dicono come proceda, in ordine quantitativo, la dissociazione nel tempo. Il metodo quantitativo, però, non può rivelare la presenza di piccole quantità di H_2O_2 , dimostrabili invece per via qualitativa con reattivi sensibili. Fra questi ho scelto, per i miei controlli, l'acido vanadico, soluzione 1 ‰ in H_2SO_4 diluito, che ha una sensibilità di 1:300.000 (in presenza di H_2O_2 si ha una colorazione rosso-mattone). Con tale reattivo ho controllato fino a quale periodo sia dimostrabile l' H_2O_2 nel latte addizionato del 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., mantenuto a diverse temperature. Sulla media di numerosi saggi, mi risulta che nel latte con il 2 ‰ di acqua ossigenata la reazione è ordinariamente negativa all'incirca dopo 15-20 ore dall'aggiunta; nel latte con il 2,5 ‰ e in quello con il 3 ‰ la negatività si osserva rispettivamente dopo 20-22 ore e dopo 24-26 ore. Il sapore del latte, però, ritorna normale diverse ore prima che la reazione diventi negativa.

Solitamente la reazione è più precocemente negativa nei campioni di latte mantenuti a 25° e a 30°, ma non poche volte mi è accaduto di osservare che in campioni esposti a queste temperature persisteva, invece, più a lungo, scomparendo prima in quelli a 15-17° e a 20-22° C. Costatazioni analoghe, talora, hanno avuto occasione di fare anche L. Morandi e L. Satta, nel corso delle loro determinazioni.

Un tale fatto, che è in contrasto con quella che è la norma, secondo la quale la dissociazione dell'acqua ossigenata aumenta con il crescere della temperatura, è verosimilmente imputabile alle modificazioni, particolarmente della reazione, che si verificano nel latte in seguito alla attività microbica, che, favorita dalla temperatura, procede ancora nelle prime ore che seguono l'aggiunta dell'acqua ossigenata. Probabilmente la presenza di taluni acidi organici

— come acido lattico, acetico, formico ecc. — originatisi principalmente per attacco parziale del lattosio, esercitano un'azione stabilizzatrice, ritardando di conseguenza la dissociazione dell'acqua ossigenata. Il fenomeno appare complesso e merita di essere ulteriormente studiato.

Ai fini pratici, tuttavia, non ha importanza una meno pronta dissociazione dell'acqua ossigenata, perchè questa non si accompagna, al di là di un certo tempo, con una alterazione dei caratteri organolettici del latte. Al contrario, si può affermare che sia di giovamento, in quanto una lenta dissociazione assicura l'effetto battericida per più lungo tempo.

È da aggiungere infine che ad uno stesso campione di latte si può aggiungere una seconda dose di acqua ossigenata, senza che ne conseguano alterazioni dei caratteri organolettici, chè questa si dissocia completamente e all'incirca nel tempo richiesto dalla prima.

Venendo ora a precisare quali dosi di acqua ossigenata 130 vol., potrebbero impiegarsi per il trattamento del latte, a me sembra che si dovrebbe portare l'attenzione sulle seguenti:

a) dose di 1 ‰ per un'azione antisettica nel latte che sia da consumarsi, d'estate, non oltre le 24 ore dall'aggiunta; se, invece, si desidera, sempre nella stagione calda, un'azione antisettica protratta, conviene aggiungere 1,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. Di conseguenza avremo che nel periodo autunno-inverno si aggiungerà al latte la dose di 1 ‰, nel periodo primavera-estate quella di 1,5 ‰. Queste quantità saranno aggiunte al latte al momento della mungitura;

b) dose del 2 ‰ di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol., per conseguire insieme una sensibile riduzione della carica batterica e la morte dei germi patogeni che più frequentemente possono trovarsi nel latte, ivi compreso il *B. tubercolare*, tipo bovino. In base a quanto è risultato dai saggi di battericidia, si può calcolare che i due effetti siano raggiunti dopo 15 ore, d'estate, e dopo 20 ore, d'inverno. Il latte con il 2 ‰ di acqua ossigenata, se non è originariamente inquinatissimo, si conserva inalterato per 48 ore a 30-32° C. Nei confronti di un latte molto inquinato, ed essendo in estate, si può prendere in considerazione la dose del 2,5 ‰,

che opera una pronta riduzione della carica batterica ed esplica al tempo stesso una rapida disinfezione.

Invece, non mi sembra suscettibile di ordinaria applicazione pratica la dose del 3 ‰, perchè la reintegrazione dei caratteri organolettici del latte avviene dopo un tempo maggiore, che in taluni campioni di latte può oltrepassare le 20 ore. A questa dose si dovrebbe fare ricorso eccezionalmente, nel caso di latte fortemente inquinato, e che debba restare per molto tempo esposto ad una temperatura ambiente elevata. Nè si può sperare che il sapore del latte possa venire reintegrato più precocemente mediante il riscaldamento, perchè anche se sottoposto all'ebollizione qualche ora dopo l'ossigenazione esso conserva un lieve sapore metallico, sebbene meno apprezzabile essendo mascherato dal caratteristico sapore di cotto.

Ai fini pratici non mi sembrerebbe vantaggioso consigliare distintamente una dose ad effetto modicamente antisettico, da aggiungersi all'atto della mungitura, ed una ad azione disinfettante, ma soltanto quest'ultima, scegliendola fra quelle sulle quali abbiamo portato l'attenzione. Orbene, stante che la minor dose ad azione disinfettante, cioè il 2 ‰, assicura una efficace riduzione della carica batterica ed al tempo stesso opera una disinfezione del latte, conviene fermarsi fondamentalmente su questa, che è presumibilmente valida per il trattamento della maggior parte del latte nelle ordinarie condizioni della produzione nel nostro Paese. Con tale dose il sapore del latte è perfettamente reintegrato dopo 8-10 ore; a tale periodo si è ottenuto una forte riduzione della carica batterica, la morte del *Bacterium coli* e di conseguenza dei patogeni intestinali; invece occorrerà un tempo maggiore, fino alle 15-20 ore, per avere la morte del *B. tubercolare*, qualora si giudichi in base ai risultati ottenuti in queste ricerche con un latte al quale era stato aggiunto mgr. 1 di patina tubercolare per litro. Ma, come si è già accennato, essendo giustificato presumere che l'inquinamento tubercolare, nella realtà, sia dato da quantità molto più piccole di germi, ne risulterà che in un tempo più breve sarà conseguibile l'effetto battericida nel latte ossigenato. Pur riconoscendo la fondamentale importanza che ha l'uccisione dei più noti patogeni nel latte, non meno importante è conseguire la riduzione della carica batterica d'inquina-

mento, poichè ad essa, secondo alcuni, sono imputabili molte forme di enteriti che si osservano nel bambino.

L'aggiunta del 2 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., sarà fatta al latte, quale si presenta nelle ordinarie condizioni di produzione e commercio. Tale dose, però, non ha azione sterilizzante e non può, nè lo si vorrebbe, risanare ogni qualunque latte, anche se inquinatissimo. Il suo uso presuppone che il latte sia stato ottenuto in condizioni di rispetto alla comune pulizia; e in ciò si troverà un incentivo a curare la produzione, pur non giungendo a quei limiti di rigore e di eccezionalità che devono garantire il consumo del latte crudo.

Se la dose del 2 ‰ è da credere possa assicurare la depurazione nella maggioranza dei campioni di latte come sono offerti dalla produzione ordinaria, si può tuttavia prevedere che per taluni campioni, per essere già all'origine fortemente inquinati e per essere stati esposti lungamente ad una temperatura favorevole ad una rapida moltiplicazione microbica, possa rendersi necessaria l'aggiunta di una dose maggiore.

MODALITÀ PRATICHE PER IL TRATTAMENTO DEL LATTE CON ACQUA OSSIGENATA ELETTROLITICA 130 VOL.

Nelle prime pagine di questa nota ho premesso che l'uso dell'acqua ossigenata nel latte dovrebbe essere, a mio parere, sottratto all'arbitrio del privato per affidarlo al controllo dell'Autorità sanitaria. L'aggiunta dell'acqua ossigenata 130 vol., nelle dosi da me sperimentate, non mira alla conservazione del latte per più giorni, ma a contenere la sua carica microbica entro limiti bassi e ad ottenere insieme la morte dei germi patogeni eventualmente presenti, entro il normale periodo di tempo nel quale il latte viene ordinariamente smaltito.

A mio avviso, ciò costituisce un pregio del metodo, che lo distingue da quelli, numerosi, che si propongono la conservazione delle sostanze alimentari, impiegando forti dosi di antisettici, che, inevitabilmente, alterano le caratteristiche chimico-biologiche dell'alimento.

Qualora si venga nell'idea di conseguire soltanto un'azione antiseptica nei confronti della carica batterica di inquinamento, si presume che l'aggiunta dell'acqua ossigenata si svolgerà in pratica con modalità molto semplice. L'aggiunta dovrebbe essere fatta al momento della mungitura, dopo che il latte, filtrato per tela, è stato travasato nei bidoni di raccolta per essere avviato ai luoghi di consumo. In base ai controlli chimici che richiesi al prof. Giuseppe Bonamartini, si può escludere che il latte, anche se addizionato del 4 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., mantenuto per 36 ore entro il bidone, dimostri vere capacità di attacco verso il metallo del recipiente (stagno, eventualmente commisto a impurezze date da piombo). I controlli hanno accertato che in tali condizioni eccezionali si ha passaggio nel latte di mgr. 0,1 di stagno per kg.; che, inoltre, è assente il piombo (*). Più favorevoli, perciò, saranno le condizioni nel latte addizionato di minori quantità di acqua ossigenata. Nel caso dell'aggiunta della dose ad azione anche disinfettante (2 ‰) che mira a conseguire una vera depurazione del latte, sembra opportuno preordinare in pratica una adatta organizzazione, sfruttando quella già disposta in Italia. Il latte può essere fatto affluire ad appositi « centri di raccolta », già esistenti in molti Comuni, e quivi, dopo filtrazione per liberarlo dal sudiciume, è addizionato del 2 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., si rimescola e si imbottiglia. Le bottiglie, che è bene non siano riempite interamente, possono essere chiuse da capsula, come attualmente; dopo 10-12 ore di permanenza a temperatura ambiente si può iniziare la distribuzione. Qualora dalla giornata residuassero partite invendute, queste potranno essere vendute il giorno successivo, senza che si ravvisi la necessità di fare una seconda aggiunta di acqua ossigenata, la quale, come si è pure accertato, si scinderebbe altrettanto rapidamente che la prima e non modificherebbe i caratteri organolettici del latte; diversamente saranno mescolate al latte dell'indomani e con esso nuovamente trattate.

(*) Nel referto d'analisi che mi fu rilasciato si legge inoltre: « È noto dalla letteratura in materia che tutti i prodotti alimentari conservati in recipienti stagnati acquisiscono quantitativi di stagno che sono in rapporto oltre che con la qualità del prodotto, col periodo di tempo di giacenza (da Hefner sono stati trovati mgr. 18 di stagno per kg. di latte condensato).

L'utilità del trattamento del latte con acqua ossigenata 130 vol., è largamente documentato dalle ricerche fatte, sia batteriologiche e chimiche, che d'ordine pediatrico. Queste ultime, eseguite dal prof. Dino Moggi, dimostrano concordemente che il latte vaccino addizionato del 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., somministrato dopo 20 ore di contatto a temperatura ambiente (16-17°), è ben tollerato dai lattanti, nei quali promuove un rapido accrescimento del peso. I grafici allegati alla nota del Moggi rivelano, nella maggior parte dei casi, che l'accrescimento è stato anzi migliore nel periodo di alimentazione con latte ossigenato, che in quello precedente a latte bollito, come di norma. Non si sono registrati vomiti o disturbi della funzione intestinale in misura superiore al consueto.

La migliore assimilabilità del latte ossigenato, sia pure con la dose del 3 ‰ - che, a ricerche batteriologiche ultimate, giudico ora di uso eccezionale - non è un fatto accidentale, poichè ciò è registrato anche nella letteratura che si riferisce agli studi compiuti nel passato sul trattamento del latte con acqua ossigenata. Risultati altrettanto buoni si potranno ottenere dal latte ossigenato al 2 ‰.

Ma fra i vantaggi presentati dalla depurazione del latte con acqua ossigenata 130 vol. conviene particolarmente rilevare quelli che tornano in favore dell'Igiene, ivi compreso il lato economico. La depurazione del latte con l'acqua ossigenata 130 vol., stante la semplicità della esecuzione, può essere realizzata in ogni luogo e nel momento che si vuole. Da questo metodo, perciò, potranno trarre vantaggio anche i più piccoli Comuni rurali, delineandosi così la prospettiva di una soluzione totalitaria del problema igienico del latte nel nostro Paese. Si deve rilevare che esso è valido non soltanto per il risanamento del latte alimentare, ma anche per quello industriale destinato alla produzione dei latticini freschi (panne, burro, formaggi non fermentati come le scamozze ecc.), che, come si avvertiva in principio, sono una fonte di infezioni altrettanto temibile.

Il metodo, nella pratica, non può conoscere le limitazioni, sia organizzative, sia economiche, che gravano sulla pastorizzazione. Nei confronti di questa ha i seguenti vantaggi: prescinde da impianti

industriali; prescinde dalla refrigerazione, pur assicurando la conservazione del latte con una bassa carica batterica per il periodo di tempo sufficiente allo smaltimento; è di facile esecuzione e può essere attuato ovunque in qualsivoglia momento; non altera in modo permanente il normale sapore del latte; costa molto meno. Considerando il prezzo dell'acqua ossigenata 130 vol., in lire 15 al kg., il costo del trattamento per ettolitro di latte, aggiungendo il 2 ‰, è di lire 3,00.

In questi ultimi tempi è stato introdotto in Italia il trattamento del latte con ossigeno compresso (latte « O » di Milano, procedimento Hofius-Richter-Crespi). Si tratta di una pastorizzazione a 55° C. per 5 ore, sotto pressione di ossigeno a 10 atmosfere; indi il latte viene distribuito in speciali recipienti e tenuto ancora sotto pressione di ossigeno fino al momento del consumo.

L'interesse del metodo è dato dal prolungato contatto del latte con l'ossigeno che, potenziato dal calore, può svolgere una azione microbica e, come prima si accennava, anche un'azione svenenante sui prodotti tossici di derivazione batterica, ma presumibilmente minore di quella attribuibile all'acqua ossigenata 130 vol. perchè in tal caso l'ossigeno agisce prevalentemente nella forma atomica, che è più attiva di quella molecolare.

Non si è avuta occasione di vedere protocolli degli esami batteriologici praticati sul latte « O », prima e dopo il trattamento; ma si sa che esso è lungamente conservabile. Si può rilevare tuttavia che questo metodo, ammesso che possa segnare qualche vantaggio nei confronti della comune pastorizzazione, non può portare alla soluzione totalitaria del problema igienico del latte, sia soprattutto per il costo che viene a presentare l'alimento, sia perchè occorrono determinati impianti, che necessariamente ne limitano la diffusione.

Perciò è da credere che il metodo di depurazione del latte con il 2 ‰ di acqua ossigenata pura 130 vol., il quale ha su tutti gli altri evidenti prerogative di praticità e di economia, alle quali unisce un sicuro effetto battericida anche nei confronti dei germi patogeni più frequenti del latte, rispettando le sue proprietà nutritive e favorendo la sua migliore utilizzazione da parte dell'organismo, possa essere destinato a trovare proficua applicazione pratica.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Löw, « Bull. Dep. Agric. », Washington, 1900; cit. da JORNS, loc. cit.
- [2] CRONER FR., « Z. f. Hyg. », 1909, 63, 319.
- [3] ZIROLIA G., « L'Igiene Moderna », 1910, 164.
- [4] PETROVANU G., « C. R. Soc. Biol. », 1929, 100, 903.
- [5] GOTTSTEIN, « Wirchow's Arch. », 1893, Bd. 133.
- [6] LÖWENSTEIN, « Wien Klin. Woch. », 1903, 30.
- [7] JORNS, « Arch. f. Hyg. », Bd. 47, H. 2.
- [8] ZIROLIA G., « L'Igiene Moderna », 1912, 281.
- [9] GIUSTI, « Ann. Med. Navale », 1904.
- [10] PERGOLA M., « Atti Accad. Fisiocr. », Siena, 1906.
- [11] RYWOSZ D., « Bull. Inst. Past. », 1923.
- [12] HEIDENHEIN, « Cbl. f. Bakt. », 1890, 16.
- [13] CAO, « Riv. Igiene e San. Pubbl. », 1904.
- [14] HUWART, cit. in Scala A., *Fisica e Chimica applicata all'Igiene*, Utet, Torino, pag. 369.
- [15] MATISLAW, cit. ibidem.
- [16] BUDDE, *Tuberculosis*, 1904, 3.
- [17] MUCH e RÖMER, cit. da SCALA A., ibidem.
- [18] Cit. in « Corso Sup. Igiene e Tecn. latte alim. », aprile-maggio 1936, ed. Sappia, Milano, pag. 633.
- [19] BULL, « Org. d'Hyg. », 1937, 3, 393.
- [20] BERTARELLI E., « Riv. It. d'Igiene », 1942, 1, 12.
- [21] SATTA E. e BRAGONI A., « Diagn. Tecn. di Lab. », 1941, 1-2-14.

Potere antisettico del 0,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. nel latte.

Carica batterica iniziale: 122.000 di germi per 1 cc. di latte.

IL TRATTAMENTO IGIENICO DEL LATTE ECC.

TABELLA N. 1.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	6.500.000	49.000.000	80.000.000	121.000.000
22	40.000.000	172.000.000	coagulato	coagulato
Coagulazione dopo ebullizione . . .	—	coagul. parz. +		
Ore di esposizione	Latte ossigenato al 0,5 ‰ mantenuto a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	60.000	78.000	904.000	7.400.000
22	240.000	1.880.000	128.000.000	176.800.000
Coagulazione dopo ebullizione . . .	—	—	+	coagul. parz. +

Potere antisettico del 0,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol.

nel latte mantenuto a varie temperature.

Carica batterica iniziale: 4.000 germi per 1 cc.

TABELLA N. 2.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	142.000	510.000	—	—
23		5.580.000	coagulato	coagulato
40	2.180.000	coagulato	—	—
Ore di esposizione	Latte ossigenato al 0,5 ‰ mantenuto a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	2.520	7.000	256.800	1.484.000
23	20.000	309.500	4.710.000	87.500.000
40	360.000	13.640.000	coagulato	coagul. parz. coagulato

*Potere antisettico del 1 ‰ di acqua ossigenata 130 vol.
nel latte mantenuto a varie temperature.*

Carica batterica iniziale : 4.000 per 1 cc.

TABELLA N. 3.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	142.000	510.000	—	—
23		5.580.000	coagulato	coagulato
40	2.180.000	coagulato	—	—
Ore di esposizione	Latte ossigenato al 1 ‰ mantenuto a			
	15-16°	20-22°	25-16°	30-32°
15	2.740	13.120	24.000	876.000
23	8.000	87.000	120.000	268.000
40	210.000	14.476.000	23.000.000	coagulato

*Potere antisettico delle dosi 0,5 e 1 ‰ di acqua ossigenata 130 vol.
nel latte.*

Carica batterica iniziale: 7.000 germi per 1 cc.

TABELLA N. 4.

Ore di esposizione	Latte ossigenato al 0,5 ‰ mantenuto a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	3.770	4.180	31.800	1.731.850
24	7.820	106.500	13.800.000	13.918.850
36	266.000	6.230.000	coagulato	coagulato

TABELLA N. 5.

Ore di esposizione	Latte ossigenato al 1 ‰ mantenuto a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-33°
15	420	1.270	31.500	33.650
24	1.140	1.980	103.350	169.000
36	29.200	396.500	coagulato	coagulato

Potere antisettico del 1 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. nel latte.

Carica batterica iniziale: 122.000 germi per 1 cc. di latte.

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

TABELLA N. 6.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	6.500.000	49.100.000	80.000.000	121.000.000
22	40.000.000	172.000.000 coagul. parz.	coagulato	coagulato
Coagulazione dopo ebullizione . . .	—	+	.	
Ore di esposizione	Latte ossigenato a 1 ‰ mantenuto a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	22.500	56.000	510.000	1.320.000
22	13.600	42.600	6.080.000	3.420.000
Coagulazione dopo ebullizione . . .	—	—	—	—

Potere antisettico della dose 1 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. nel latte.

Carica batterica iniziale = 10.500.000 germi per 1 cc. di latte.

TABELLA N. 7.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a	Latte ossigenato al 1 ‰ mantenuti a			
		15-17°	20-22°	25-26°	30-33°
16	a 15° = 62.960.000 a 20° = 80.800.000	960.000	1.000.000	2.220.000	3.910.000
24	a 15° = 144.000.000 a 20° coagulato	1.396.000	1.220.000	4.390.000	19.600.000 coagulato ±
36		6.355.000	7.940.000	coagulato	coagulato

TABELLA N. 8.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	6.500.000	49.100.000	80.000.000	121.000.000
22	40.000.000	172.000.000	coagulato	coagulato
coagulazione dopo ebullizione . . .	—	+		
Ore di esposizione	Latte ossigenato a 1,5 ‰ mantenuto a			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	12.540	8.400	43.600	104.000
22	7.500	19.200	152.200	429.000
coagulazione dopo ebullizione . . .	—	—	—	—

*Riduzione della carica batterica nel latte con il 2-2,5-5 ‰
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a 15-17°.*

*IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.*

TABELLA N. 9.

Ore di esposizione	Controllo a 15-17°	T. a. 15-17° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata						Note
		2 ‰	Riduz. ‰	2,5 ‰	Riduz. ‰	5 ‰	Riduz. ‰	
0	56.000.000							Campioni in vetreria non sterile
1		14.000.000	28.87	30.000.000	46.42	28.000.000	50.00	
2		15.770.000	71.83	10.140.000	81.89	2.375.000	95.75	
6		190.000	99.66	190.000	99.66	162.000	99.71	
8		183.000	99.67	175.000	99.68	160.000	99.71	
24	coagulato	650.000	98.83	530.000	99.05	78.000	99.86	

TABELLA N. 10.

Ore di esposizione	Controllo a 15-17°	T. a. 15-17° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduz. ‰	2,5 ‰	Riduz. ‰	5 ‰	Riduz. ‰
0	5.000.000						
1		305.000	93.90	260.000	94.80	250.000	95.00
2		280.000	94.40	134.000	97.32	130.000	97.40
6		78.000	98.44	71.000	98.58	18.000	99.64
8		63.000	98.74	25.000	99.50	7.600	99.84
10	12.200.000	53.600	98.92	22.200	99.55	6.000	99.88
15		40.200	99.19	40.400	99.19	27.800	99.44
24	111.200.000	176.000	96.60	60.000	98.80	49.000	99.02
32	coagulato	874.000	82.52	690.000	86.20	389.500	92.21
40		985.000	80.30	765.000	84.70	472.500	90.55

*Riduzione della carica batterica nel latte con il 2-2,5-3 ‰
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a 15-17° C.*

TABELLA N. 11.

Ore di esposizione	Controllo a 15-17°	T. a. 15-17° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduz. ‰	2,5 ‰	Riduz. ‰	3 ‰	Riduz. ‰
0	14.000.000						
1		3.950.000	71.78	3.870.000	72.35	3.800.000	72.85
2		923.000	93.40	900.000	93.57	850.000	93.92
6		590.430	95.77	475.000	96.60	419.000	97.00
8		290.000	97.92	285.000	97.96	230.000	98.35
10		199.000	98.57	100.000	99.28	12.000	99.91
24	coagulato	296.000	97.88	75.200	93.45	3.000	99.98
32		437.000	96.87	98.000	99.30	6.200	99.95
40		1.358.000	90.30	1.001.200	92.82	614.600	95.61

TABELLA N. 12.

Ore di esposizione	Controllo a 15-17°	T. a. 15-17° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduz. ‰	2,5 ‰	Riduz. ‰	3 ‰	Riduz. ‰
0	1.500.000						
15		3.600	99.76	2.800	99.88	2.400	99.84
16		3.000	99.80	1.800	99.88	1.600	99.89
21		2.600	99.82	1.800	99.88	1.600	99.89

*Riduzione della carica batterica nel latte con il 2 ‰
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a varie temperature.*

*IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.*

Carica batterica iniziale = 2.930.000 germi per 1 cc.
(Latte inquinato in laboratorio con *Bacterium coli*).

TABELLA N. 13.

Ore di esposizione	Controllo mantenuto a	Latte ossigenato al 2 ‰ mantenuto a							
		20-22°	15-17°	Riduz. ‰	20-22°	Riduz. ‰	25-26°	Riduz. ‰	30-32°
15	116.600.000	25.800	99.34	16.000	99.58	110.000	97.20	166.000	95.77
22	coagulato	5.100	99.87	14.400	99.63	217.000	94.47	230.000	94.14
40		564.000	85.40	1.560.000	60.30	2.180.000	44.52	2.358.000	40.00

*Riduzione della carica batterica nel latte con il 2-2,5-3 ‰
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a 20-22° C.*

TABELLA N. 14.

Ore di esposizione	Controllo a 20-22°	20-22° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduz. ‰	2.5 ‰	Riduz. ‰	3 ‰	Riduz. ‰
0	10.500.000						
16	80.000.000	800.000	92.00	194.000	98.15	125.000	98.80
22	coagulato	270.000	97.42	29.800	99.76	22.000	99.79
40		3.123.750	70.25	2.469.600	76.48	1.535.100	85.38

*Riduzione della carica batterica nel latte con il 2-2,5-3 ‰
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a 25-26° C.*

TABELLA N. 15.

Ore di esposizione	Controllo a 25-26°	25-26° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduz. %	2,5 ‰	Riduz. %	3 ‰	Riduz. %
0	10.500.000						
16	coagulato	88.000	91.61	210.000	98.00	63.600	99.59
22		161.600	98.46	132.000	98.74	12.400	99.88
40		4.405.800	58.04	3.134.250	70.15	2.070.600	80.28

*Riduzione della carica batterica nel latte con il 2 - 2,5 - 3 ‰
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a 30-32° C.*

TABELLA N. 16.

Ore di esposi- zione	Controllo a 30-32°	30-32° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduzione %	2,5 ‰	Riduzione %	3 ‰	Riduzione %
0	3.200.000						
10	60.000.000	112.000	96.50	36.000	98.87	18.000	99.45
25	coagulato	288.000	90.00	14.000	99.56	3.000	99.90
30		945.280	70.45	6.000	99.81	5.440	99.83

TABELLA N. 17.

Ore di esposi- zione	Controllo a 30-32°	30-32° Riduzione carica batterica con acqua ossigenata					
		2 ‰	Riduzione %	2,5 ‰	Riduzione %	3 ‰	Riduzione %
0	600.000						
15		18.000	96.00	13.600	97.73	800	99.86
20		36.000	93.00	2.800	99.53	400	99.93
40		379.260	36.78	207.960	63.34	176.520	70.58

*Riduzione della carica batterica nel latte
con il 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a varie temperature.*

Carica batterica iniziale: 760.000 germi per 1 cc.

TABELLA N. 18.

Ore di esposizione	15-17°		20-22°		25-23°		30-31°	
		Riduz. %		Riduz. %		Riduz. %		Riduz. %
15	1.300	99.82	2.000	99.73	3.800	99.50	3.100	99.59
21	80	99.98	110	99.98	80	99.97	240	99.99
40	200	99.97	200	99.97	600	99.92	400	99.94

*Riduzione della carica batterica nel latte
con il 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a 20-22° e a 30-32°.*

Carica batterica iniziale: 50.654.000.000

(inquinato in laboratorio con una forte quantità di *Bacterium coli*).

TABELLA N. 19.

Ore di esposizione	20-22°	30-32°
15	515.000	8.160.000
24	2.005.000	13.631.000
38	2.579.000	coagulato

Percentuali medie della riduzione della carica batterica nel latte con
il 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., mantenuto in condizioni
diverse di temperatura.

TABELLA N. 20.

Ore di esposizione	Acqua ossigenata 2 ‰				Acqua ossigenata 2.5 ‰				Acqua ossigenata 3 ‰			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
1	64.75				71.19				72.91			
2	89.87				90.92				95.69			
3	97.95				98.28				98.78			
4	98.77				99.04				99.00			
10	98.94			96.00	99.41			97.93	99.49			99.45
15	99.40	95.79	94.40	96.13	99.50	98.15	98.00	98.87	99.64	98.80	99.39	98.72
22	99.82	98.64	96.46	93.57	99.88	99.76	98.74	99.53	99.88	99.79	99.88	99.96
24	97.77			90.00	99.10			99.56	99.61			99.90
30				70.45				99.81				99.85
32	89.69				92.75				96.08			
40	85.33	65.27	51.28	38.36	88.76	76.48	70.15	65.34	93.08	85.38	80.28	70.58

*Sopravvivenza del « Bacterium coli » (ceppi BRANDAGLIA e PELLEGRINI)
nel latte con il 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., mantenuto
a 20-22° e a 30-32° C.*

*IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.*

Carica di *Bacterium coli* aggiunta: 30.000 unità per 1 cc. di latte.

Ricerca del *B. coli* in cc. 10 di latte.

TABELLA N. 21.

Ore di esposizione	20-22° acqua ossigenata			Controllo	30-32° acqua ossigenata			Controllo	Note
	2 ‰	2,5 ‰	3 ‰		2 ‰	2,5 ‰	3 ‰		
	‰	‰	‰		‰	‰	‰		
3	+	+	+	÷	+	+	+	÷	+ = presente in cc. 10 di latte.
4	+	+	+		+	+	+		- = assente in cc. 10 di latte.
5	+	-	-		+	+	+		
6	+	-	-		+	-	-		
7	+	-	-		+	-	-		
8	+	-	-		+	-	-		
9	-	-	-		+	-	-		
10	-	-	-	÷	-	-	-		

*Sopravvivenza della Salmonella typhi (ceppi CASCIANO e Ty. 2) nel latte con il 2-2,5-3 0/100
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a varie temperature.*

Carica tifica: 15.000.000 di unità per 1 cc. di latte.

Ricerca in cc. 5 di latte (+ = presente).

TABELLA N. 22.

Ore di esposizione	15-17°			Controllo	20-22°			Controllo	25-26°			Controllo	30-32°			Controllo
	2 0/100	2,5 0/100	3 0/100		2 0/100	2,5 0/100	3 0/100		2 0/100	2,5 0/100	3 0/100		2 0/100	2,5 0/100	3 0/100	
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Sopravvivenza delle Brucelle, « melitensis » e « abortus » (miscela dei ceppi: Brucella melitensis n. 1; Brucella abortus n. 1), nel latte sterile ossigenato al 2-2,5-3 ‰.

IL TRATTAMENTO IGIENICO DEL LATTE ECC.

Carica brucellare: 30.000.000 di unità per 1 cc. di latte.

Ricerca in cc. 5 di latte (+ = presente).

TABELLA N. 23.

Ore di esposizione	18-20° Acqua ossigenata			Controllo	30-32° Acqua ossigenata			Controllo
	2 ‰	2,5 ‰	3 ‰		2 ‰	2,5 ‰	3 ‰	
30'	—	—	—	+	—	—	—	+
1	—	—	—		—	—	—	
1,30	—	—	—		—	—	—	
5	—	—	—	+	—	—	—	+

*Sopravvivenza del B. tuberculare tipo bovino (ceppo VALLÉE) nel latte con il 2-2,5-3 %
di acqua ossigenata 130 vol. mantenuto a varie temperature.*

Carica batterica del latte: 15.000.000 di germi per 1 cc.

Carica tuberculare del latte: mgr. 1 di patina umida per litro.

Letture dopo 45 giorni di sviluppo a 38° C.

TABELLA N. 24.

Ore di esposizione	15-17°			20-22°			25-26°			30-32°			Controllo
	2 %	2,5 %	3 %	2 %	2,5 %	3 %	2 %	2,5 %	3 %	2 %	2,5 %	3 %	
10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Il numeratore indica le colonie contate; il denominatore i tubi di cultura.

Dosaggio della vitamina A nel latte vaccino con il 3‰ di acqua ossigenata 130 vol. e nel latte normale.

U. I. = (1 U. I. = γ 0,6 di β carotina).

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

TABELLA N. 25.

Campioni	U. I. di Vit. A per 100 gr. di latte
1° Campione con 3‰ di acqua ossigenata, mantenuto 36 h. a 20° C.	125
2° Campione come al n. 1, mantenuto per 36 h. a 30-32° C.	125
3° Campione normale, controllo.	158
4° Campione normale A.	130
5° Campione normale B.	135

Dosaggio della vitamina B₁ nel latte vaccino con il 3‰ di acqua ossigenata 130 vol. e nel latte normale.

U. I. di vitamina B₁ (1 U. I. = γ 2,5 di cloridrato di aneurina).

TABELLA N. 26.

Campioni	U. I. per 100 gr. di latte
1° Latte con il 3‰ di acqua ossigenata, mantenuto 36 h. a 20-22° C.	12-15
2° Latte come al n. 1, mantenuto 36 h. a 30-32° C.	12-15
3° Latte normale, controllo.	25-30
4° Latte normale, campione A.	15-18
5° Latte normale, campione B.	20-22

*Comportamento della vitamina C nel latte vaccino con 1 ‰ di acqua
ossigenata in ordine alla temperatura di conservazione.*

U. I. di vitamina C (1 U. I. = mgr. 0,05 di acido ascorbico).

TABELLA N. 27.

Ore di esposizione	Controlli mantenuti a					Latte ossigenato al 1 ‰ mantenuto a			
	Frigor. a + 4°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
0	31.5	31.5	31.5	31.5	31.5	24	24	24	24
15	23.8	14.3	13.5	13.00	2.4	13.2	8.8	4.4	4.4
Perdita %	24.44	54.6	57.14	58.73	92.38	45	63.33	81.66	81.66
22	20.0	5.0	5.0	5.0	coagul.	11	5.2	3.6	1.8
Perdita %	36.50	84.12	84.12	84.12		54.16	78.33	85.00	92.50

*Comportamento della vitamina C nel latte vaccino con il 2 e 3 ‰ di acqua ossigenata
130 vol. in ordine alla temperatura.*

U. I. di vitamina C iniziali = 32,8

TABELLA N. 28.

Ore di esposizione	Controlli a					2 ‰ di acqua ossigenata				3 ‰ di acqua ossigenata			
	Frigor. + 4°	15-17°	20-22°	25-26°	30-33°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15	27.9	15.6	6.5	2.9	1.98	3.7	2.15	1.98	1.98	3.0	2.15	1.7	1.7
25	19.8	2.6	6.4	coagul.	coagul.	2.15	1.7	1.98	1.7	2.15	1.7	1.7	1.7

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

Dosaggio biologico della vitamina D nel latte ossigenato.



Radiografia N. 1. - Un gruppo di ratti controllo alimentati soltanto con dieta carenzata Steembock 2965. Si nota marcata decalcificazione a livello della linea metafisaria della tibia.



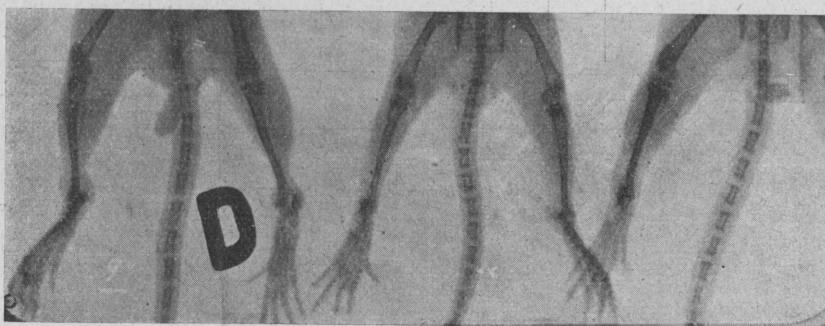
Radiografia N. 2. - Un gruppo di ratti controllo alimentati con la dieta carenzante + 1 U. I. di Vit. D (Vigantolo) *pro die*. Non si nota decalcificazione a livello delle epifisi.



394 Radiografia N. 3. - Un gruppo di ratti alimentati con la dieta carenzante + cc. 30 di latte normale *pro die*. Non si nota decalcificazione.

Dosaggio biologico della vitamina D nel latte ossigenato.

Radiografia N. 4. - Un gruppo di ratti alimentati con dieta carente + cc. 30 di latte ossigenato al 3 ‰ *pro die* somministrato dopo 36 h di esposizione a 20-22° C. Non si nota decalcificazione rispetto ai controlli.



Radiografia N. 5. - Un gruppo di ratti alimentati con dieta carente + cc. 30 di latte ossigenato al 4 ‰ *pro die* somministrato dopo 36 h di esposizione a 20-22° C. Non si nota decalcificazione rispetto ai controlli.

*Comportamento del pH nel latte con il 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata
130 vol. in ordine alla temperatura.*

TABELLA n. 31.

Ore di esposizione	Acqua ossigenata 2 ‰				Acqua ossigenata 2,5 ‰				Acqua ossigenata 3 ‰			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
0	5.03	5.03	5.03	5.03	4.80	4.80	4.80	4.80	4.60	4.60	4.60	4.60
10	6.96	6.70	6.36	6.20	6.88	6.45	6.26	6.00	6.18	6.00	5.00	5.98
15	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	6.98	7.00	7.00	6.96
20	7.00	7.00	7.00	6.88	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00

*Comportamento del numero di catalasi nel latte vaccino
in ordine alla temperatura di conservazione.*

N. catalasi = gr. di H_2O_2 scissi da cc. 100 di latte.

N. catalasi iniziale = gr. 0,0476 ‰.

TABELLA N. 32.

Ore di esposizione	Campioni conservati a				
	Frigorifero a + 4°	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
7	0.0714	0.0748	0.1326	0.5644	0.5474
24	0.027	0.348	0.0986	0.2040 coagul. parz.	coagulato

Riduzione della carica batterica nel latte cotto, inquinato in laboratorio con « Bacterium coli » (ceppo BRANDAGLIA), addizionato del 3‰ di acqua ossigenata 150 vol. e mantenuto a varie temperature.

IL TRATTAMENTO IGIENICO DEL LATTE ECC.

Carica batterica iniziale: 1.570.000 germi per 1 cc.

TABELLA N. 33.

Ore di esposizione	Riduzione carica batterica con il 3‰ di acqua ossigenata			
	15-17°	20-22°	25-26°	30-32°
15 Riduzione %	1.230.000 21.65	1.120.090 28.66	785.000 50.00	41.000 97.38
24 Riduzione %	91.000 94.20	65.000 95.85	40.000 97.45	21.000 98.66
38 Riduzione %	13.000 99.17	12.000 99.23	8.000 99.49	6.000 99.61

Comportamento del lattosio nel latte con il 3‰ di acqua ossigenata 150 vol., mantenuto a varie temperature.

Lattosio iniziale nel latte = gr. 3.30 %.

TABELLA N. 34.

Ore di esposi- zione	Controlli mantenuti a				Latte ossigenato al 3‰ mantenuto a			
	Frigor. a + 4°	15-17°	20-22°	30-33°	Frigor. a + 4°	15-17°	20-22°	30-33°
8	3.20	3.18	3.14	3.14	3.30	3.50	3.50	3.50
24	3.14	3.14	coagul.	coagul.	3.29	3.29	3.29	3.29

II.

LUIGI MORANDI E LUIGI SATTA

RICERCHE CHIMICHE SUL LATTE TRATTATO CON ACQUA OSSIGENATA PURA ELETTROLITICA 130 VOL.

Ponendo a reagire l'acido cloridrico con il perossido di bario, Thénard nel 1818 scoprì il biossido di idrogeno che chiamò acqua ossigenata. Il Maestro nel suo « Trattato di chimica » scrisse: « le proprietà di questo nuovo corpo sono così notevoli e così differenti da quelle degli altri corpi che mi si perdonerà, lo spero, di dare qui un esteso estratto della memoria che ho inserito nel volume che l'Accademia delle Scienze ha pubblicato nel 1818 ». Il metodo di preparazione del Thénard opportunamente modificato ai fini industriali e successivamente perfezionato con tutti gli accorgimenti suggeriti dall'esperienza, fu seguito per moltissimi anni. L'acqua ossigenata che così veniva preparata aveva però l'inconveniente di essere non soltanto poco concentrata ma anche scarsamente stabile. Per il prodotto preparato in scala industriale, il contenuto massimo in H_2O_2 era del 6 %, pari a circa 20 vol. di ossigeno.

È noto che l'acqua ossigenata, come tutti i perossidi del genere, tende a cedere spontaneamente e più o meno rapidamente l'ossigeno a seconda delle condizioni nelle quali è conservata e della natura dei materiali e sostanze con le quali viene a contatto. Questa labilità era soprattutto la caratteristica dell'acqua ossigenata preparata secondo il procedimento del Thénard. Tale caratteristica negativa ne aveva limitato l'impiego nei primi anni dalla scoperta e fino a quando non si identificarono alcune sostanze chimiche, sia organiche che inorganiche (stabilizzatori), le quali, opportunamente aggiunte, ritardano la dissociazione spontanea dell' H_2O_2 . Tra le sostanze organiche hanno notevole azione stabilizzante quelle che contengono nella molecola gruppi aminici i

derivati fenolici o piridinici. Tuttavia questi stabilizzatori raggiungevano parzialmente lo scopo e contribuivano ad accrescere sensibilmente le impurezze contenute nell'acqua ossigenata, impurezze trascinate dai prodotti in reazione e dalle apparecchiature. Le impurezze più importanti erano costituite dal bario e dal piombo, elementi questi di cui è ben nota la tossicità, e che impedivano l'uso dell'acqua ossigenata, della quale era stato riconosciuto l'elevato potere microbicida, ai fini conservativi nelle sostanze alimentari deperibili.

Il metodo del Thénard dominò fino al 1910 circa. In questa epoca incominciarono le prime esperienze di preparazione dell'acqua ossigenata per via elettrolitica (Pries e Fischer, 1913) ed anche per decomposizione dei persolfati (Pictzsch e Adolph, 1910). Il procedimento elettrolitico, del quale si riconobbero subito i vantaggi, non entrò nella fase industriale che dopo la grande guerra in Germania. In seguito si estese anche ad altri Paesi, e nel 1937 esistevano 33 impianti industriali con una produzione complessiva di 35.000 tonnellate di acqua ossigenata calcolata a 100 vol. L'acqua ossigenata elettrolitica aveva acquistato requisiti tali da imporsi all'attenzione degli studiosi e dei tecnici, per cui il procedimento di preparazione dal perossido venne, nel corso degli anni, abbandonato. Col nuovo processo di fabbricazione e negli impianti ben vigilati, il prodotto viene oggi normalmente fabbricato con un titolo del 40% di H_2O_2 , pari a circa 130 vol. di ossigeno, senza ricorrere a speciali procedimenti di concentrazione sotto vuoto. Migliorata la purezza dallo stesso procedimento elettrolitico, risultò che anche la stabilità era notevolmente accresciuta.

Il metodo elettrolitico è stato applicato anche in Italia, ove si dispone oggi di un grande stabilimento (*) che produce acqua ossigenata ad alta concentrazione. La fabbrica è entrata in funzione nel 1925 con una produzione che è andata via via crescendo in misura tale da poter largamente sopperire al fabbisogno nazionale, alla fabbricazione del perborato di sodio e dei perossidi e ad una notevole corrente di esportazione.

Nel 1941 i tecnici preposti alla fabbricazione sono riusciti a mettere definitivamente a punto alcuni importanti accorgimenti che

(*) A Milano della Società Montecatini.

garantiscono la produzione di grandi quantitativi di uno speciale tipo di acqua ossigenata concentrata che, per l'elevatissimo grado di purezza, può essere impiegata come disinfettante e conservativo per le sostanze alimentari.

Abbiamo proceduto a ripetute analisi di questo nuovo prodotto ed a saggi sulla sua stabilità. I dati di composizione, desunti dalla media di numerose determinazioni, possono essere fissati nei seguenti:

Acqua ossigenata elettrolitica pura 150 vol.

Peso specifico	1,135
Punto di congelamento.	— 46° C.
Liquido limpido ed incolore.	
H ₂ O ₂	59 % in volume, pari a 150 vol. di ossigeno
Acidità totale espressa in H ₂ SO ₄	0,09 ‰
H ₂ SO ₄ (per acidità libera e combinata)	0,05 ‰
P ₂ O ₅	0,36 ‰
Na ₂ O	0,15 ‰
K ₂ O	tracce
Residuo fisso a 100-110° C.	1,00 ‰
Arsenico, piombo, rame, ferro, bario, calcio, magnesio	assenti

L'acqua ossigenata 150 vol. è un prodotto che dev'essere trattato con speciali riguardi, al fine di evitare che corpi e sostanze estranee possano nuocere alla sua stabilità. Sono catalizzatori di violenta azione decompositrice il rame, il piombo e il ferro. Versando una goccia di acqua ossigenata su un pezzo di piombo si ha una decomposizione così violenta che dopo pochi secondi l'acqua ossigenata è completamente scissa in acqua e ossigeno con reazione fortemente esotermica. Qualora una sostanza che abbia azione catalitica (la maggior parte dei metalli, i loro sali e molte sostanze organiche) cada in un recipiente contenente acqua ossigenata, la decomposizione di questa sarà più o meno rapida, ma totale. Se il recipiente è ermeticamente chiuso, l'ossigeno che si libera chiederà una via d'uscita e supererà qualsiasi resistenza. È quindi buona norma di tenere i recipienti coperti ma non ermeticamente chiusi.

Per le ragioni sopradette si dovrà avere molta cura nella scelta e nella pulizia dei recipienti di travaso e di misura. Questi potranno essere di vetro, di ceramica o di alluminio e saranno sempre impiegati per quell'unico scopo. Seguendo queste norme l'acqua ossigenata potrà essere maneggiata senz'altre preoccupazioni tenendo però presente che per la sua alta concentrazione ha un'azione caustica e corrosiva sui tessuti in genere. Versata sulla pelle imbianca immediatamente l'epidermide e lascia per qualche minuto una caratteristica sensazione come di puntura di spilli.

Per quel che riguarda il controllo della stabilità del prodotto, si è provveduto ad un elevato numero di saggi e come valore medio di circa 500 determinazioni è stato trovato che l'acqua ossigenata pura 130 vol. mantenuta per 24 ore in termostato a 96° C. in palloncino di vetro neutro, perde il 3,5 % del suo contenuto in H_2O_2 . La determinazione della perdita è stata fatta titolando col metodo ossidimetrico al permanganato in ambiente acido per acido solforico.

Per quel che riguarda il saggio della stabilità nel tempo in condizioni diverse di temperatura, abbiamo raccolto i dati seguenti:

TABELLA N. 1.

Recipiente: flaconi comuni di vetro bianco e di vetro giallo. *Esposizione:* luce diffusa.
Temperatura: 40° C. (termostato). *Durata dell'esposizione:* giorni 15.

N. Campione	H_2O_2 % iniziale	H_2O_2 % dopo giorni 15	Perdita %	Osservazioni
1	39,65	39,30	0,88	vetro bianco
2	39,65	39,25	1,10	
3	39,65	39,54	0,17	vetro giallo
4	39,65	39,54	0,17	

TABELLA N. 2.

Recipiente: flaconi comuni di vetro bianco e di vetro giallo. Esposizione: luce diffusa.
Temperatura (t. a.): 18-20° C. Durata dell'osservazione: giorni 31.

N. Campione	H ₂ O ₂ % iniziale	H ₂ O ₂ % dopo giorni 31	Perdita %	Osservazioni
1	39,65	39,65	—	vetro bianco
2	39,65	39,65	—	
3	39,65	39,65	—	
4	39,65	39,65	—	vetro giallo

TABELLA N. 3.

Recipiente: flaconi comuni di vetro bianco e di vetro giallo. Esposizione: luce diffusa.
Temperatura (cella termostatica): 28-30° C. Durata dell'osservazione: giorni 31.

N. Campione	H ₂ O ₂ % iniziale	H ₂ O ₂ % dopo giorni 31	Perdita %	Osservazioni
1	39,65	39,00	1,65	vetro bianco
2	39,65	39,00	1,65	
3	39,65	39,65	—	
4	39,65	39,60	0,15	vetro giallo

TABELLA N° 4.

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

Recipiente: flaconi comuni di vetro bianco. Esposizione: luce diffusa.

Temperatura (t. a.): 16-20° C. Durata dell'osservazione: mesi 6.

Giorni	Camp. n. 1		Camp. n. 2		Camp. n. 3		Camp. n. 4		Camp. n. 5		Camp. n. 6	
	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %
0	39,10	—	39,45	—	38,95	—	39,15	—	39,00	—	39,34	—
15	38,95	0,38	39,30	0,38	38,87	0,20	39,00	0,38	38,85	0,38	39,26	0,20
30	38,80	0,76	39,15	0,77	38,76	0,48	38,86	0,74	38,70	0,75	39,18	0,41
45	38,75	0,89	39,00	1,14	38,68	0,69	38,75	1,02	38,54	1,17	39,11	0,58
60	38,65	1,15	38,85	1,52	38,55	1,03	38,60	1,40	38,41	1,51	39,05	0,75
75	38,61	1,25	38,60	2,15	38,49	1,18	38,41	1,89	38,26	1,89	38,92	1,06
90	38,58	1,32	38,50	2,40	38,35	1,54	38,29	2,19	38,12	2,25	38,85	1,24
105	38,51	1,50	38,35	2,78	38,26	1,77	38,17	2,50	37,95	2,69	38,80	1,37
120	38,46	1,63	38,15	3,29	38,16	2,02	38,05	2,80	37,80	3,07	38,74	1,52
135	38,36	1,89	38,05	3,54	38,10	2,18	37,85	3,32	37,64	3,48	38,68	1,67
150	38,15	2,42	37,95	3,80	38,03	2,36	37,60	3,95	37,42	4,05	38,62	1,83
165	37,91	3,04	37,91	3,90	37,91	2,67	37,45	4,34	37,26	4,46	38,59	1,90
180	37,74	3,47	37,87	4,01	37,84	2,85	37,51	4,69	37,15	4,80	38,54	2,01

I numerosi ed accurati controlli sulla stabilità, dei quali sono stati riportati i protocolli, attestano pertanto che l'acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol. mantenuta in vetri incolore a temperatura ambiente (16-20° C.) accusa una perdita media del titolo, dopo mesi 6, del 3 %. Alla temperatura di 28-30° C., dopo 31 giorni di esposizione alla luce diffusa in vetro incolore, la perdita media è dell'1,65 %; alla temperatura di 40° C., nelle stesse condizioni sperimentali, dopo 15 giorni la perdita è dell'1 % circa.

Segue TABELLA N. 4.

Giorni	Camp. n. 7		Camp. n. 8		Camp. n. 9		Camp. n. 10		Camp. n. 11		Camp. n. 12	
	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %	H ₂ O ₂ %	Perdita %
0	39,15	—	38,98	—	39,30	—	39,50	—	39,12	—	39,05	—
15	39,10	0,12	38,91	0,17	39,11	0,48	39,40	0,25	39,01	0,28	39,01	0,10
30	39,04	0,28	38,86	0,30	38,91	0,99	39,28	0,55	38,93	0,48	39,00	0,12
45	39,00	0,38	38,80	0,46	38,75	1,39	39,12	0,96	38,87	0,63	38,95	0,25
60	38,92	0,58	38,74	0,61	38,60	1,78	38,97	1,54	38,79	0,84	38,91	0,35
75	38,87	0,71	38,69	0,74	38,41	2,26	38,85	1,64	38,70	1,07	38,86	0,48
90	38,81	0,86	38,58	1,02	38,20	2,79	38,70	2,02	38,61	1,50	38,83	0,56
105	38,77	0,97	38,50	1,23	37,98	3,37	38,57	2,35	38,55	1,45	38,79	0,66
120	38,71	1,12	38,41	1,46	37,75	3,94	38,41	2,75	38,47	1,66	38,75	0,76
135	38,65	1,27	38,32	1,69	37,54	4,47	38,29	3,06	38,41	1,81	38,66	0,99
150	38,59	1,43	38,25	1,87	37,38	4,88	38,10	3,54	38,39	1,86	38,59	1,17
165	38,51	1,63	38,15	2,12	37,21	5,31	37,95	3,92	38,30	2,09	38,41	1,63
180	38,44	1,82	38,07	2,34	37,08	5,65	37,82	4,26	38,24	2,24	38,29	1,94

I saggi comparativi su campioni conservati in vetro incolore e in vetro giallo dimostrano, nelle varie condizioni di temperatura prese in considerazione, che la perdita percentuale è di circa due terzi inferiori impiegando vetro giallo. Come è noto, questa minore perdita percentuale è dovuta alla protezione dell'acqua ossigenata dall'azione della luce (fotolisi).

Per meglio mettere in evidenza i grandi progressi compiuti nella fabbricazione dell'acqua ossigenata, desideriamo ricordare al lettore che Thénard, arricchendo con un gran numero di operazioni successive la sua soluzione di biossido di idrogeno e operando

sempre a zero gradi, era giunto a preparare un liquido di 125 vol. di ossigeno ma aveva constatato che « quando il liquido racchiudeva circa 50 vol. di ossigeno lasciava sfuggire tanto gas, dall'oggi all'indomani, che non v'era alcun vantaggio a continuare ad ossigenarlo con altro biossido di idrogeno ». Sul modo di conservare l'acqua ossigenata Thénard scrive che « bisogna versarla in un lungo tubo di vetro chiuso ad un'estremità, chiudere l'altra con un tappo di sughero e contornare il tubo di ghiaccio ». Oggi l'acqua ossigenata ad alta concentrazione si spedisce in comuni damigiane di vetro e dall'Italia è stata inviata, in lotti di qualche tonnellata, in America, in Africa, in Giappone e in Russia ove giunse con inalterato tenore in ossigeno attivo.

* * *

Le caratteristiche di purezza e di stabilità, insieme al titolo elevato, consentivano di sperare in una interessante applicazione del prodotto a scopi igienici, sfruttando il suo già noto ed elevato potere microbicide. Infatti le ragioni che avevano impedito l'uso del prodotto ottenuto con il procedimento al perossido di bario, determinate dalla presenza di metalli tossici e dalla instabilità del titolo, contenuto per altro in limiti troppo bassi, apparivano felicemente superate dalle singolari prerogative dell'acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol., la quale, per avere un titolo così elevato, autorizzava a sperare in un effetto microbicide raggiungibile con piccole dosi.

Sono note le applicazioni dell'acqua ossigenata ai fini della disinfezione comune, attuabili evidentemente anche con un prodotto impuro per sostanze tossiche. Gli studiosi soffermando il pensiero sul fatto che l'acqua ossigenata quando ha ceduto il suo ossigeno attivo non dovrebbe lasciare come residuo che acqua ($H_2O_2 = H_2O + O$), vennero spesso attratti dalla possibilità di sfruttare questa eccezionale caratteristica ai fini conservativi e depurativi per le sostanze alimentari. Invece, appunto per la non ancora raggiunta grande purezza dell'acqua ossigenata, questi tentativi, sia pur giustificati dai favorevoli risultati sperimentali, non poterono concretarsi.

È solo recentemente che tale problema più volte studiato nel passato, è stato nuovamente affrontato. Col prof. Ernesto Satta dell'Istituto d'Igiene della R. Università di Firenze noi abbiamo ripreso in esame la possibilità di impiegare l'acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol. ai fini della depurazione batteriologica del latte, che fra tutti gli alimenti è notoriamente più soggetto al guasto determinato dall'attività microbica.

Pur avendo l'acqua ossigenata elettrolitica raggiunto, in confronto al prodotto ottenuto col vecchio metodo dal perossido di bario, un elevato grado di purezza, si è voluto, come già s'è detto, spingere gli studi sulla preparazione industriale per ottenere un prodotto che non potesse sollevare obiezioni di sorta da parte della Sanità Pubblica, che, giustamente, è molto severa quando si tratta di considerare l'impiego di sostanze chimiche nei prodotti per l'alimentazione.

Si è detto precedentemente che i chimici hanno individuato alcune sostanze con potere stabilizzante sull'acqua ossigenata. Queste sostanze hanno un'azione di antiveneno in quanto riducono l'attività catalitica negativa di quelle impurezze (veleni), contenute nel prodotto industriale, le quali agiscono come elementi di decomposizione. Sulla base di questo concetto i chimici della Società Montecatini si sono preposti di preparare industrialmente un'acqua ossigenata assolutamente esente da catalizzatori negativi e come tale di alta stabilità senza che fosse quindi necessario impiegare i cosiddetti stabilizzatori che, comunque, rappresentano sempre elementi estranei che possono essere considerati con sospetto quando si voglia aggiungere il perossido d'idrogeno alle sostanze alimentari.

Introducendo alcune importanti variazioni nel processo di fabbricazione, la Società Montecatini è riuscita, come si disse, a fabbricare in scala industriale quell'acqua ossigenata a 130 vol. che noi qui abbiamo preso in esame. Essa è stabile di per sé e la stabilità è in funzione della sua grande purezza. Eliminati i veleni non v'è più ragione d'impiegare gli antiveneni. È stato quindi possibile fornire al prof. Satta un'acqua ossigenata concentrata che pienamente rispondeva alle esigenze degli studi che sono stati portati a termine sulla depurazione del latte.

Parallelamente alle ricerche di indole batteriologica sono state condotte anche delle ricerche chimiche tendenti a stabilire i fattori che regolano l'azione dell'acqua ossigenata nel latte. Si sa che l'acqua ossigenata è primariamente tossica e che i nostri tessuti, come apprendiamo dalla chimica biologica, provvedono a decomporla in acqua e ossigeno mediante enzimi ossidasici. Nel latte esistono due enzimi capaci di scindere l' H_2O_2 : le perossidasi che liberano ossigeno atomico secondo l'equazione $\text{H}_2\text{O}_2 = \text{H}_2\text{O} + \text{O}$, e le catalasi che liberano invece ossigeno molecolare come dall'equazione $2 \text{H}_2\text{O}_2 = 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. Si tenga inoltre conto che nel latte sono presenti enzimi catalasici di origine batterica. È noto inoltre che tali enzimi sono presenti soltanto nel latte crudo e che sono distrutti dal riscaldamento a 80°C . Si trattava ora di stabilire in quale grado e con quale rapidità si decomponesse l' H_2O_2 nel latte crudo mantenuto in condizioni diverse di temperatura. Queste determinazioni sono state eseguite con le dosi di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol. che esperimentava il prof. Satta dal lato batteriologico.

La tecnica da noi seguita per la titolazione dell' H_2O_2 nel latte è la seguente:

con pipetta tarata si prelevano 100 cc. di latte e, in bicchiere da 200 cc. previo riscaldamento a 40°C circa, si coagula la caseina con 10 cc. esatti di HCl diluito (1:4); si raffredda rapidamente, si filtra su un leggero strato di cotone curando di avere un siero limpido, si sprema poi il coagulo e il cotone su doppia tela asciutta in maniera di recuperare la maggior parte del siero. Si prelevano 55 cc. di siero ai quali, in matraccio di circa 1000 cc. con tappo finemente smerigliato, si aggiungono 5 cc. di HCl concentrato e gr. 1 circa di potassio ioduro solido. Per l'ossidazione del KJ da parte di tutta l' H_2O_2 presente, sono sufficienti 30-40 minuti primi. È bene però agitare di frequente. Quindi, previa aggiunta di circa 500 cc. di acqua, si titola l'iodio con soluzione di iposolfito sodico $\text{N}/10$ usando come indicatore la salda d'amido. Per il calcolo: 1 cc. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 \text{N}/10 = \text{gr. } 0,0017$ di H_2O_2 .

Abbiamo rilevato e studiato oltre che la dissociazione dell' H_2O_2 nel latte, anche le modificazioni dei caratteri organolettici in seguito all'aggiunta delle dosi sperimentate di acqua ossigenata 130 vol.

Si è voluto anche stabilire se nel latte di recente ossigenato scompaia l' H_2O_2 o se la sua presenza non sia più apprezzabile al gusto qualora l'alimento venga sottoposto all'ebollizione.

I. - DISSOCIAZIONE DELL' H_2O_2 NEL LATTE IN ORDINE
ALLA TEMPERATURA DI CONTATTO

Un primo saggio di orientamento è stato fatto sul latte vaccino crudo filtrato su tela fitta e addizionato all'1 ‰ (Tabella N. 5) e 1,5 ‰ (Tabella N. 6) di acqua ossigenata 130 vol., agitato a fondo e mantenuto a 20-22° C. Da questa prova è emerso che già alla prima ora si ha una perdita percentuale di oltre il 50 %; dopo 4 ore l' H_2O_2 è indosabile nel latte con l'1 ‰ e dopo 5 ore nel campione con l'1,5 ‰ la perdita è salita a 96,58 %.

TABELLA N. 5.

Ore	H_2O_2 ‰	Perdita %
0	0,390	—
1	0,150	61,53
2	0,060	84,61
3	0,015	96,15
4	indosabile	

TABELLA N. 6.

Ore	H_2O_2 ‰	Perdita %
0	0,585	—
1	0,235	51,28
2	0,160	72,64
3	0,085	85,47
4	0,045	92,30
5	0,020	96,58
6	indosabile	

L'andamento della dissociazione è chiaramente visibile nel grafico n. 1.

Un esperimento sistematico venne fatto sopra campioni mantenuti alle temperature di 15-20-30° C. con le seguenti dosi di acqua ossigenata elettrolitica 130 vol.: 2, 2,5, 3 ‰ (questi numeri indicano i cc. di acqua ossigenata 130 vol. versati in un litro di latte. Il

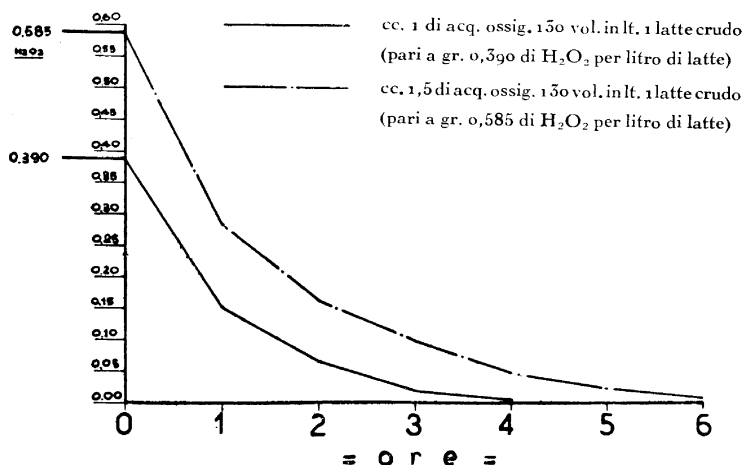
valore corrispondente in H_2O_2 si calcola tenendo conto che 100 cc. di acqua ossigenata 130 vol. contengono gr. 39 di H_2O_2).

La necessità di tale controllo è stata determinata dalla considerazione che la temperatura ambiente alla quale si dovrebbe eseguire la depurazione batteriologica del latte mediante l'acqua ossigenata presenta evidentemente delle oscillazioni stagionali delle quali era opportuno tener conto. Per tali saggi abbiamo sempre adoperato latte crudo vaccino, proveniente da un allevatore locale nelle prossimità del Laboratorio, dove perveniva dopo 10-12 ore dalla mungitura. I campioni sui quali si è sperimentato erano

Grafico n° 1

Dissociazione dell'acqua ossigenata elettrolitica

130 vol. nel latte crudo. Temper. 20 - 22°C.



costituiti da 6 litri di latte ai quali veniva aggiunta l'acqua ossigenata nelle dosi sopradette. Ogni campione veniva suddiviso in tre parti di due litri ciascuna versate in bevute chiuse da tappo di cotone ed esposte alle temperature sopraindicate. A tempi determinati si passava al prelevamento di 100 cc. per il dosaggio dell' H_2O_2 , secondo il metodo che abbiamo indicato. I risultati ottenuti dalle titolazioni sono esposti nelle Tabelle seguenti, e coi dati medi si sono compilati dei grafici che come tali si prestano all'illustrazione del fenomeno.

A) Dissociazione dell'acqua ossigenata 130 vol. nella dose del 2 ‰ nel latte crudo.

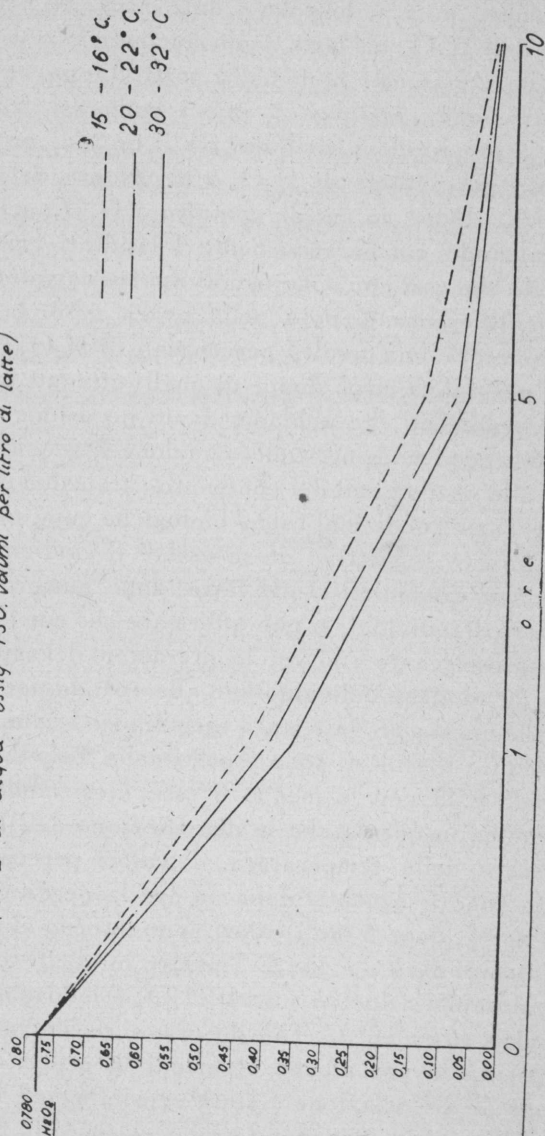
TABELLA N. 7.

O re	t = + 15° C.		t = + 20° C.		t = + 30° C.	
	H ₂ O ₂ ‰	Perdita %	H ₂ O ₂ ‰	Perdita %	H ₂ O ₂ ‰	Perdita %
Prova n. 1.						
0	0,780	—	0,780	—	0,780	—
1	0,508	34,87	0,481	38,33	0,447	42,69
5	0,202	74,10	0,147	81,15	0,127	83,71
10	0,040	94,87	0,030	96,15	0,026	96,66
20	indosabile		indosabile		indosabile	
Prova n. 2.						
0	0,780	—	0,780	—	0,780	—
1	0,517	33,71	0,457	41,42	0,423	45,75
5	0,188	75,89	0,117	85,00	0,090	88,46
10	0,075	90,38	0,070	91,02	0,062	92,05
20	indosabile		indosabile		indosabile	
Prova n. 3.						
0	0,780	—	0,780	—	0,780	—
1	0,312	60,00	0,278	64,35	0,225	71,15
5	0,070	91,02	0,027	96,53	0,010	98,71
10	indosabile		indosabile		indosabile	

Nella Tabella N. 7 sono esposti i risultati ottenuti da tre prove e nel grafico n. 2 si leggono i dati medi. Si nota che la dissociazione dell' H_2O_2 nel latte crudo aumenta in ordine alla temperatura sebbene con scarti non molto forti. Dopo un'ora di contatto la dissociazione raggiunge i valori compresi fra il 35 e il 45 %; dopo 5 ore i valori oscillano fra il 60 e il 90 %; dopo 10 ore la perdita percentuale di H_2O_2 è al disopra del 90 % e giunge fino al 98 %. Dopo 20 ore di contatto l' H_2O_2 nel latte è indosabile. Esaminando comparativamente i risultati emersi dalle tre prove si vede che essi non sono uguali nei tre campioni di latte. Una sensibile differenza si nota nella prova n. 3, la quale denuncia, già dopo un'ora, una perdita percentuale di H_2O_2 fra il 60 % e il 70 %, cioè per valori circa doppi di quelli ottenuti nelle altre due prove. Tale fenomeno che abbiamo avuto occasione di riscontrare anche nei saggi con maggiore concentrazione di acqua ossigenata, è imputabile alle oscillazioni del contenuto catalasico del latte, determinate dalle varie condizioni fisico-biologiche cui è soggetto il latte stesso. Per quanto soggettivo possa essere il giudizio sulle variazioni dei caratteri organolettici del latte, dopo numerose prove su un gran numero di individui, si può affermare che con l'aggiunta del 2 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. le alterazioni del sapore sono state avvertite da qualche individuo fino alla 10^a, da pochissimi nella 12^a ora. Anche questa prova è stata eseguita su 3 campioni di latte di 6 litri ciascuno; i risultati sono esposti nella Tabella n. 8 ed illustrati dal grafico n. 3 con le medie di essi. Così come nella precedente si riscontra in questa che la dissociazione dell' H_2O_2 è più rapida col crescere della temperatura. I valori percentuali di H_2O_2 dissociata sono i seguenti: dopo un'ora la perdita è compresa tra il 75 e il 90 %; dopo 5 ore i valori sono intorno al 98-99 % nei campioni mantenuti a 15 e a 20° C., mentre in quelli tenuti a 30° C. l' H_2O_2 è indosabile; dopo 10 ore l' H_2O_2 è indosabile anche nei campioni tenuti a 15 e a 20° C. Tale decorso si riscontra nelle prove n. 1 e 2. Presenta invece alcune eccezioni la prova n. 3. In questo campione la dissociazione è stata sensibilmente meno rapida che negli altri due, tale che dopo 10 ore la perdita percentuale non aveva ancora toccato il 90 % e soltanto dopo 20 ore di contatto l' H_2O_2 era indosabile.

Grafico n°2

Dissociazione del 2‰ di acqua ossigenata 130 volumi nel latte crudo
(cc. 2 di acqua ossig 130 volumi per litro di latte)



B) Dissociazione dell'acqua ossigenata 130 vol. nella dose
del 2,5 ‰ nel latte crudo.

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

TABELLA N. 8.

O re	t = + 15° C.		t = + 20° C.		t = + 30° C.	
	H ₂ O ₂ ‰/oo	Perdita ‰/o	H ₂ O ₂ ‰/oo	Perdita ‰/o	H ₂ O ₂ ‰/oo	Perdita ‰/o
Prova n. 1.						
0	0,975	—	0,975	—	0,975	—
1	0,279	75,89	0,242	79,31	0,188	83,95
5	0,016	98,35	0,008	99,17	indosabile	
10	indosabile		indosabile			
Prova n. 2.						
0	0,975	—	0,975	—	0,975	—
1	0,178	81,74	0,184	81,12	0,087	90,05
5	0,017	98,25	0,010	98,97	indosabile	
10	indosabile		indosabile			
Prova n. 3.						
0	0,975	—	0,975	—	0,975	—
1	0,706	27,58	0,675	30,76	0,605	37,94
5	0,336	65,53	0,302	69,02	0,235	75,89
10	0,117	88,00	0,102	89,53	0,099	89,84
20	indosabile		indosabile		indosabile	

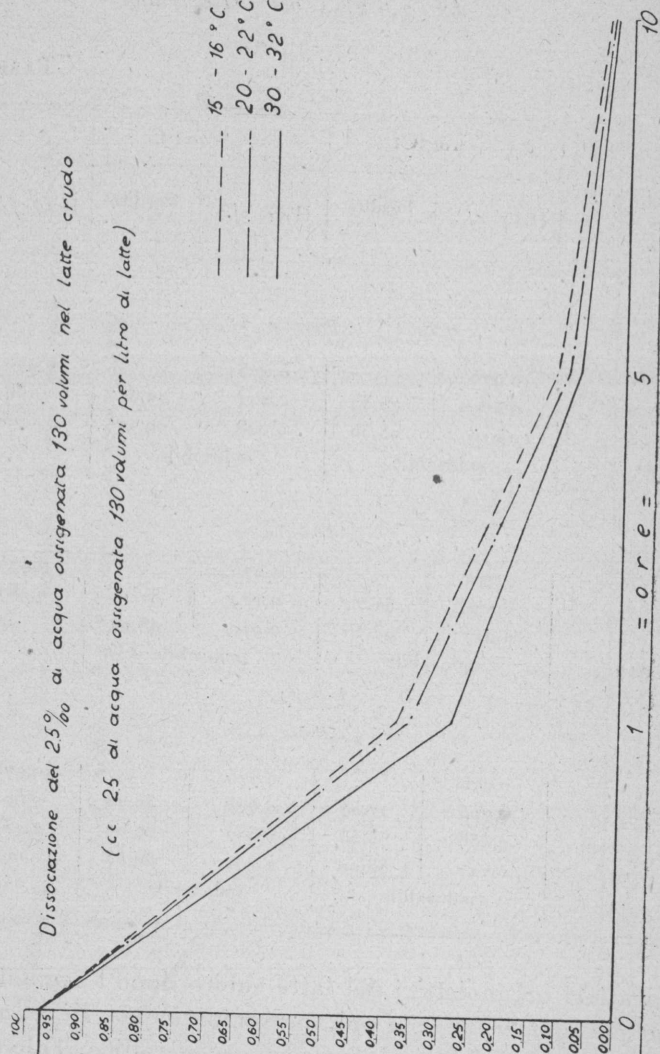
I caratteri organolettici del latte subito dopo l'aggiunta del 2,5 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. presentano una lieve modificazione essendo apprezzabile un leggero sapore metallico. Tale fatto diventa sempre meno evidente a misura che procede la dissociazione dell'H₂O₂, di guisa che dopo 10 ore dall'aggiunta, qualunque sia la temperatura di esposizione, nei campioni di latte è scomparso praticamente il sapore metallico.

Grafico n° 3

Disociazione del 25% di acqua ossigenata 130 volumi nel latte crudo

(cc 25 di acqua ossigenata 130 volumi per litro di latte)

--- 15 - 16 °C
--- 20 - 22 °C
--- 30 - 32 °C

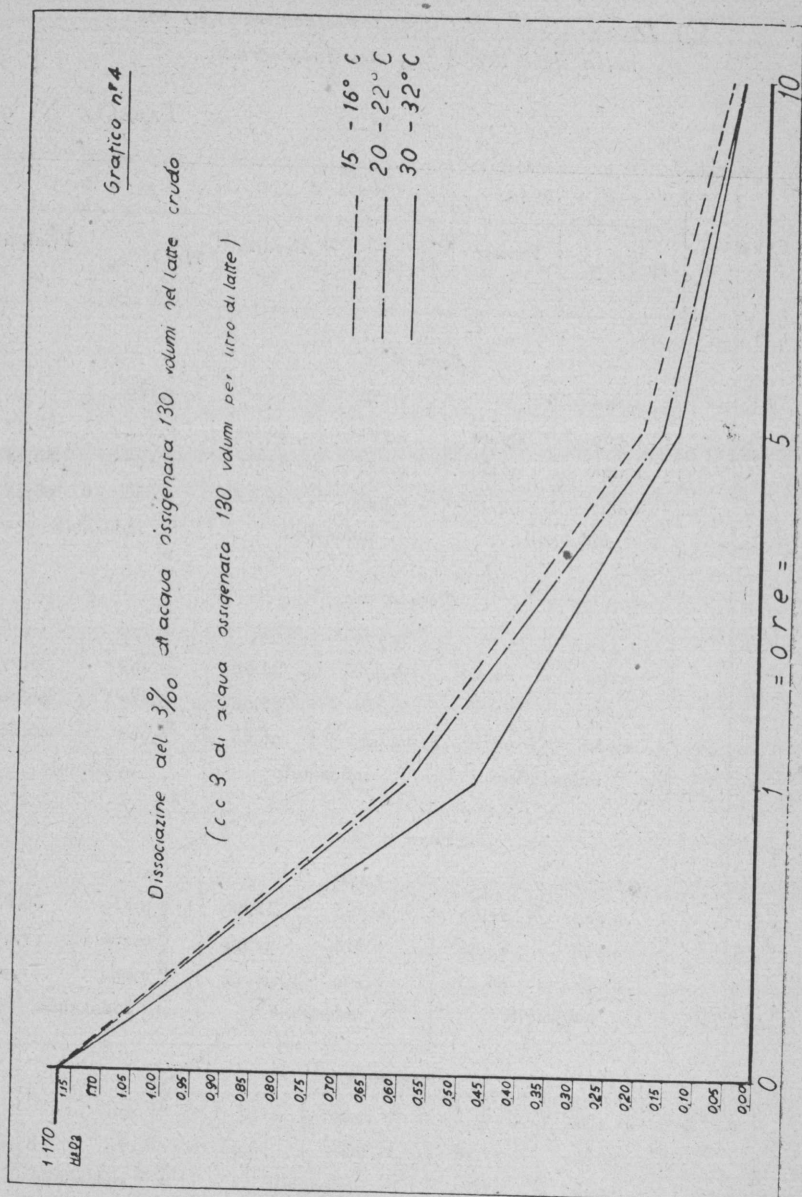


C) Dissociazione dell'acqua ossigenata 130 vol.
nella dose del 3 ‰ nel latte crudo.

IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

TABELLA N. 9.

O re	t = + 15° C.		C. t = + 20°		t = + 30° C.	
	H ₂ O ₂ ‰	Perdita %	H ₂ O ₂ ‰	Perdita %	H ₂ O ₂ ‰	Perdita %
Prova n. 1.						
0	1,170	—	1,170	—	1,170	—
1	0,709	59,40	0,702	40,00	0,504	56,92
5	0,265	77,35	0,215	81,62	0,192	83,58
10	0,067	94,41	0,043	96,32	0,036	96,92
20	indosabile		indosabile		indosabile	
Prova n. 2.						
0	1,170	—	1,170	—	1,170	—
1	0,559	52,22	0,578	50,59	0,494	57,77
5	0,107	90,85	0,151	87,09	0,117	90,00
10	0,032	97,26	0,037	96,83	0,052	95,55
20	indosabile		indosabile		indosabile	
Prova n. 3.						
0	1,170	—	1,170	—	1,170	—
1	0,847	27,60	0,793	31,88	0,739	36,83
5	0,410	64,95	0,316	72,99	0,269	77,00
10	0,161	86,25	0,100	91,45	0,094	91,96
20	indosabile		indosabile		indosabile	
Prova n. 4.						
0	1,170	—	1,170	—	1,170	—
1	0,336	71,28	0,305	73,93	0,174	85,12
5	0,033	97,17	indosabile		indosabile	
10	indosabile					



Questo controllo è stato fatto con 4 campioni di latte di 6 litri ciascuno. I risultati sono esposti nella Tabella n. 9; in base alle medie calcolate sui valori riscontrati è stato allestito, come per le prove precedenti, il grafico n. 4.

Le perdite percentuali di H_2O_2 sono le seguenti:

dopo un'ora fra il 30 e il 57 % nei campioni 1-2-3, mentre oscillano fra il 70 e l'85 % nel campione n. 4. Dopo 5 ore le perdite percentuali sono comprese fra il 65 e 90 %, ma tocca il 97 % nel campione n. 4, e soltanto nel campione mantenuto a 15° C., mentre in quello a 20 e a 30° C. l' H_2O_2 è indosabile. Dopo 10 ore di contatto la dissociazione dell' H_2O_2 oscilla fra l'86 e il 97 % ed è indosabile nel campione n. 4 anche a 15° C. Dopo 20 ore è indosabile anche nei campioni delle prove 1, 2, 3.

Subito dopo l'aggiunta dell'acqua ossigenata a 130 vol. si apprezza una sensibile modificazione nei caratteri organolettici del latte, che acquista un sapore caratteristico metallico. A misura che procede la dissociazione dell' H_2O_2 , il sapore metallico si attenua sempre di più. Dopo 15 ore è già divenuto lievemente percepibile ma scompare del tutto dopo 18-20 ore. Nel corso di questi saggi sono state riscontrate come nelle prove precedenti, variazioni nell'apprezzamento individuale. Per altro si è notato che in taluni campioni di latte il sapore metallico scompariva del tutto alla 10^a ora e, per contro, in altri era ancora lievemente percepibile alla 20^a ora. Queste oscillazioni, che trovano riscontro nelle titolazioni dell' H_2O_2 dissociatasi, sono, come si è già accennato, imputabili al diverso contenuto catalasico del latte.

II. - DISSOCIAZIONE DELL' H_2O_2 NEL LATTE

PREVIAMENTE BOLLITO.

Un campione di cc. 2.000 di latte vaccino crudo, filtrato su tela fitta, addizionato del 3^o/₁₀₀ di acqua ossigenata 130 vol. e agitato a fondo è lasciato a temperatura ambiente (19°-20° C.). A tempi determinati si procede al prelevamento di due campioni di latte per la determinazione dell' H_2O_2 , che in un campione viene eseguita dopo averlo sottoposto all'ebollizione per 5 minuti primi.

I risultati ottenuti sono esposti nella Tabella n. 10, nella quale si vede che, fino alla 15^a ora dall'aggiunta, le perdite percentuali di H_2O_2 nel campione di latte crudo e in quello bollito sono all'incirca uguali, essendo di poco superiori quelle riscontrate nel campione riscaldato. I valori percentuali delle perdite sono equivalenti a quelli ottenuti nei precedenti saggi, di cui al paragrafo C). Per quel che riguarda le modificazioni dei caratteri organolettici si è notato che alla 10^a ora, mentre nel campione di latte crudo il sapore metallico è ancora percepibile, nel campione bollito non è apprezzabile, venendo mascherato dal sapore di cotto assunto dal latte.

TABELLA N. 10.

Ore	Crudo		Bollito	
	H_2O_2 ‰	Perdita %	H_2O_2 ‰	Perdita %
0	1,170	—	1,170	—
5	0,309	73,58	0,285	75,64
10	0,154	86,83	0,144	87,69
15	0,096	91,79	0,089	92,39
20	indosabile		indosabile	

* * *

I risultati ottenuti dalle analisi sull'acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol., consentono di affermare che il prodotto unisce all'elevato contenuto di H_2O_2 il pregio della purezza e della stabilità. Le determinazioni sulla dissociazione dell' H_2O_2 nel latte vaccino crudo, mantenuto a 15-16° C., a 20-22° C., a 30-32° C., attestano che l'acqua ossigenata 130 vol. è dissociata nel latte più rapidamente quando la temperatura è di 30-32° C. In media dopo 10-15 ore, a seconda della dose aggiunta al latte, non è più dimostrabile quantitativamente H_2O_2 residua. Le per-

dite percentuali di H_2O_2 raggiungono già dopo 5 ore dall'aggiunta dell'acqua ossigenata valori alti; alla 10^a ora si riscontra H_2O_2 residua soltanto nei campioni addizionati con le dosi maggiori con perdite percentuali intorno al 90-97 %, mentre nel campione addizionato con la dose minore (2 ‰) il saggio iodometrico non rivela H_2O_2 residua.

Un esame comparativo delle perdite percentuali registrate nei campioni con il 2-2,5-3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol., dimostra che il latte vaccino crudo è in grado di scindere sensibili quantità di H_2O_2 in tempo relativamente breve. Ciò è provato dalle alte perdite percentuali che, a parità di tempo e di temperatura, sono state riscontrate nei campioni addizionati del 3 ‰ di acqua ossigenata 130 vol. La pronta dissociazione di una così alta quantità di H_2O_2 che è frutto dell'attività enzimatica del latte in unione alla decomposizione spontanea del perossido, documenta una volta di più la possibilità di trattare il latte crudo con acqua ossigenata, la quale presenta il vantaggio, nei confronti di altri antisettici, di svolgere la sua azione microbica senza lasciare residui che possano modificare permanentemente la fisiologia chimica del latte. Si è voluto anche assodare che si può trattare il latte con acqua ossigenata e conservarlo in recipienti stagnati o di alluminio senza che il latte e l'azione dell'acqua ossigenata abbiano a soffrire, e così pure che detti recipienti non vengono comunque intaccati.

Prove in parallelo con latte naturale e latte ossigenato conservato per 36 ore in recipienti di alluminio hanno dimostrato che le minime tracce di alluminio che passano nel latte si equivalgono nei due casi e inoltre che la resistenza del metallo è tanto migliore quanto maggiore è la sua purezza.

L'alluminio è tra i metalli che meglio resistono all'azione dell'acqua ossigenata e infatti questa, anche ad alta concentrazione, può essere trasportata in fusti e cisterne di alluminio. È inoltre noto che l'alluminio acquista una resistenza decisamente superiore agli aggressivi sottoponendolo ad ossidazione anodica o per via chimica. È da augurare che all'acqua ossigenata elettrolitica 130 vol. di alta purezza e stabilità, ormai ottenuta in grandi quantitativi con processo industriale, si aprano felici prospettive per il suo impiego a scopo igienico non soltanto per il latte ma anche per altri alimenti.

III.

DINO MOGGI

PRIMI ESPERIMENTI DI ALIMENTAZIONE DEL BAMBINO CON LATTE TRATTATO CON ACQUA OSSIGENATA ELETTROLITICA PURA 130 VOL.

Per conto dell'Istituto di Igiene della R. Università e su richiesta del prof. E. Satta, Aiuto dell'Istituto stesso, ho fatto, fra i bambini ricoverati nell'Istituto Principessa di Piemonte di Firenze, alcune prove di tolleranza con latte sterilizzato, invece che con il comune sistema di riscaldamento a bagno maria per 15 minuti, con l'aggiunta di acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol., di produzione nazionale.

Su indicazioni del prof. Satta, che ha fatto sul latte così trattato le necessarie ricerche batteriologiche e biochimiche, per la preparazione dell'alimento destinato ai bambini si è proceduto nel modo seguente:

la quantità del latte per i pasti di 24 ore di un certo numero di bambini veniva, appena giunta all'Istituto, riunita in un recipiente e vi si aggiungeva l'acqua ossigenata in proporzione del 3 %. Dopo opportuna agitazione della miscela, il latte veniva suddiviso nelle boccette occorrenti per i vari pasti, queste chiuse con ovatta e lasciate a temperatura ambiente (16°-18°); dopo 24 ore il latte così trattato veniva aggiunto alle farinate già cotte od all'acqua di diluizione secondo le diverse diete. I pasti preparati venivano consumati nelle 24 ore successive (44 ore dal trattamento del latte con acqua ossigenata).

Sono stati alimentati con latte ossigenato tre gruppi di bambini: 1° gruppo: n. 9 bambini dai 4 ai 9 mesi; durata dell'esperimento giorni 18; dieta: gr. 600 di latte al giorno con aggiunta di acqua, farinata di grano e zucchero.

Senza riferire dettagliatamente di ciascun caso, riporto le grafiche contenenti l'andamento del peso, le scariche alvine, gli eventuali vomiti e le osservazioni fatte durante la prova e nei 10 giorni precedenti o successivi.

Dalle grafiche si nota che il peso è cresciuto nel periodo di prova più che nel periodo di controllo in 7 bambini su 9, e dei 2 cresciuti meno, 1 aveva subito un aumento di dieta verso la fine dell'esperimento. L'accrescimento medio è stato di gr. 20 al giorno nel periodo di prova e di gr. 7,5 in quello di controllo.

Una lieve forma faringea, che ha colpito 2 bambini nel periodo dell'esperimento, non ha inciso sensibilmente sulla curva del peso. La tolleranza gastrica è stata ottima: un solo bimbo ha avuto vomito il primo giorno del nuovo alimento, ma in contrapposto, il n. 11, vomitatore abituale col latte sterilizzato al calore, ha smesso di vomitare prendendo il latte ossigenato. Qualche altro vomito si è avuto occasionalmente, sia nel periodo di esperimento che in quello di controllo. Ottima in tutti la tolleranza intestinale: anzi lo stesso n. 11, prima dispeptico, si è regolarizzato col nuovo alimento. Nessun soggetto di questo gruppo ha presentato riluttanza al latte ossigenato.

2° gruppo: n. 17 bambini dai 9 ai 15 mesi; durata dell'esperimento dai 12 ai 15 giorni, secondo i casi; dieta: gr. 600 di latte al giorno (tranne i n. 43, 59, 60, 61, 69 che avevano gr. 450) con aggiunta di acqua, farina di grano e zucchero, più minestre in brodo e frutta cruda.

In questo gruppo, come si vede dalle grafiche, l'andamento del peso ha presentato varie oscillazioni: in 13 soggetti su 17 l'accrescimento è stato buono o nettamente superiore a quello del periodo di controllo, (medie rispettive gr. 20 e gr. 13 al giorno), in 4 invece si è avuto una diminuzione del peso, ma uno di essi ha presentato nel periodo di prova una faringite febbrile, gli altri sono rimasti fermi o sono calati anche nel periodo di controllo. La tolleranza gastrica del latte ossigenato è stata ottima, come nel gruppo precedente, qualche vomito si è avuto tanto nel periodo di esperimento che in quello di controllo; 3 soggetti hanno rifiutato di prendere il primo pasto, od al più, i primi due pasti con latte ossigenato. Anche la tolleranza intestinale, come risulta dalle grafiche, è stata ottima.

3° gruppo: n. 11 bambini dai 15 ai 24 mesi: durata dell'esperimento giorni 12; dieta: latte gr. 450 al giorno con pane o biscotti,

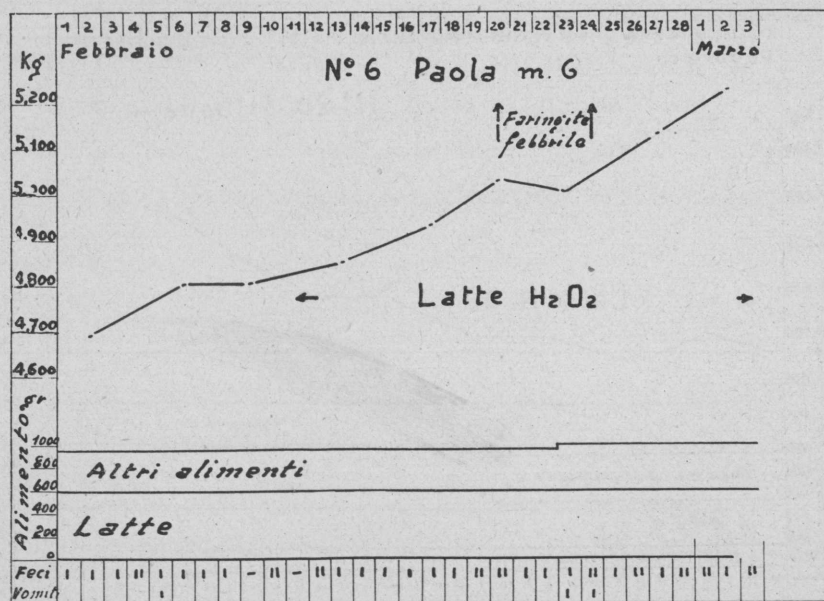
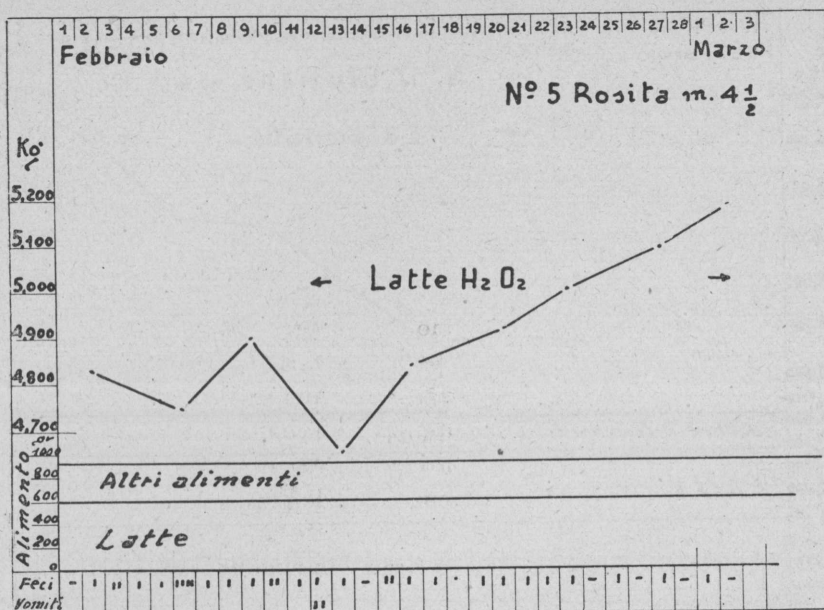
più minestre, verdura, fegato od uovo, frutta cruda. Naturalmente in questo gruppo l'accrescimento in peso è stato più modesto, data l'età superiore: 7 su 11 sono cresciuti assai più nel periodo di esperimento che in quello di controllo (rispettivamente gr. 7,6 e gr. 1,3), altri 4 sono rimasti stazionari o sono un poco diminuiti, ma nel corrispondente periodo di controllo si trova pure peso stazionario o leggermente diminuito. La tolleranza gastrica e quella intestinale sono state perfette, anzi il n. 31 che presentava abitualmente 3-4 scariche giornaliere, ha ridotto il numero a 1-2 con il latte ossigenato. Nessuno dei soggetti ha presentato difficoltà a prendere il latte addizionato con acqua ossigenata.

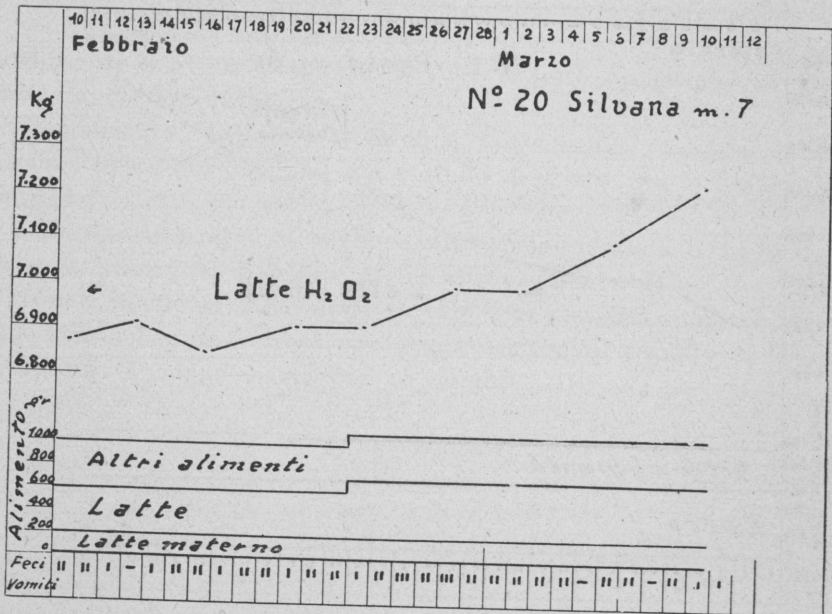
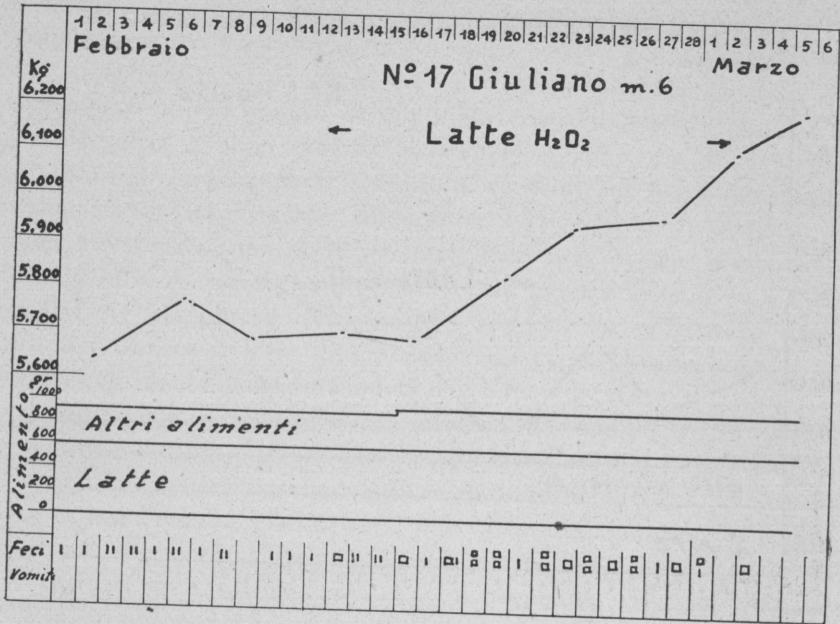
In tutti i 37 bambini saggiati le feci non hanno presentato macroscopicamente aspetto sensibilmente diverso da quello che avevano nel periodo di alimentazione con il latte sterilizzato a bagno-maria. Le conclusioni che si possono dedurre dalle prove fatte di alimentazione di bambini dai 4 ai 24 mesi con latte addizionato con acqua ossigenata elettrolitica pura 130 vol., per quanto il numero dei soggetti trattati sia assai modesto, sono le seguenti:

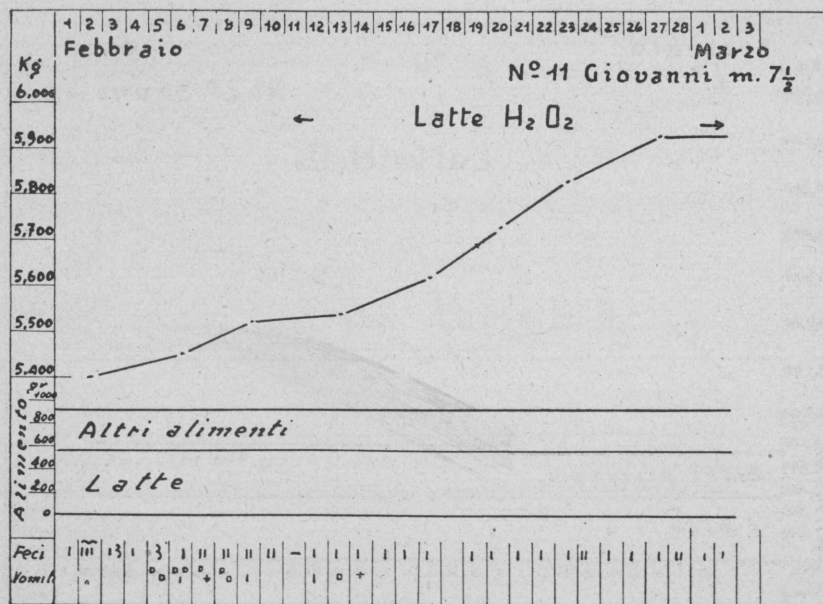
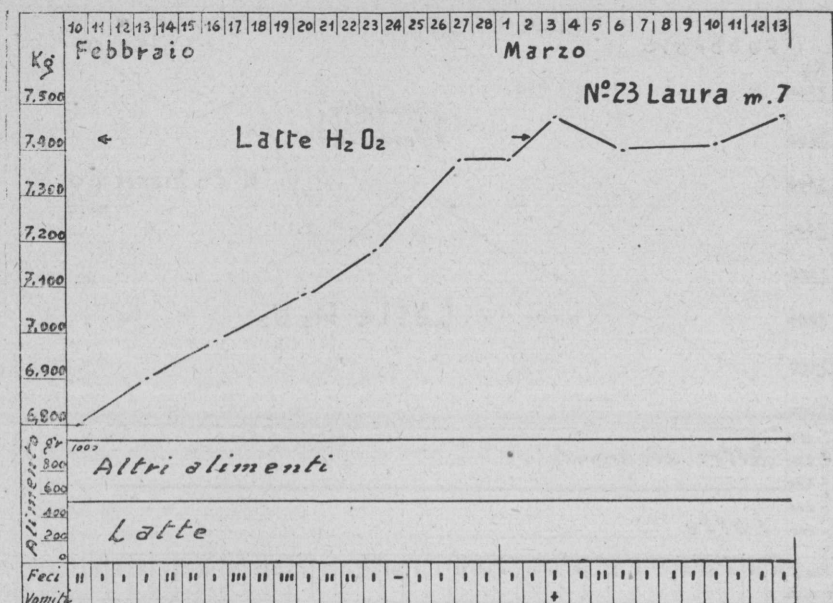
1° il latte addizionato con acqua ossigenata è stato preso bene e senza disturbi nella totalità dei casi, le funzioni gastrointestinali si sono mantenute ottime nel periodo di prova, anzi in qualche bambino si è avuta l'impressione che il latte ossigenato avesse quasi azione antidispetica;

2° l'andamento del peso è stato complessivamente migliore, nella massima parte dei bambini, nel periodo di prova che in quello di controllo.

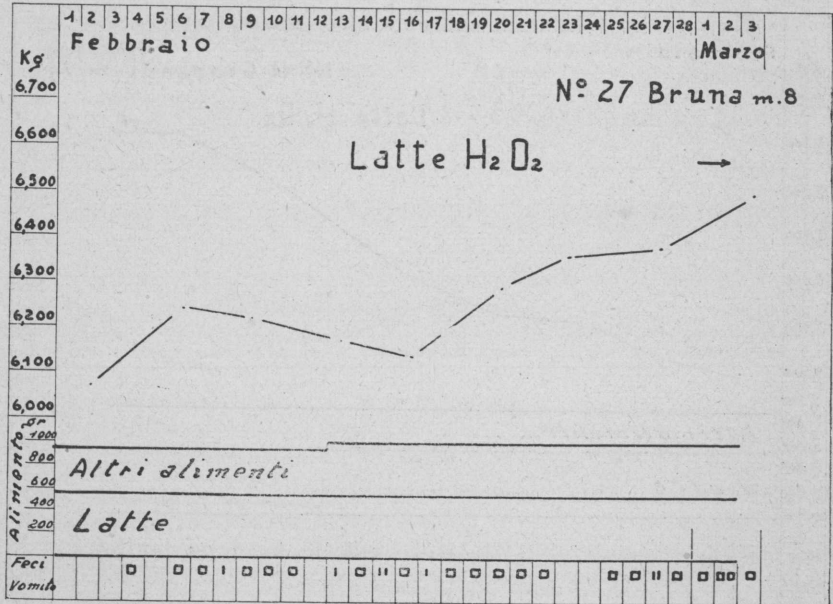
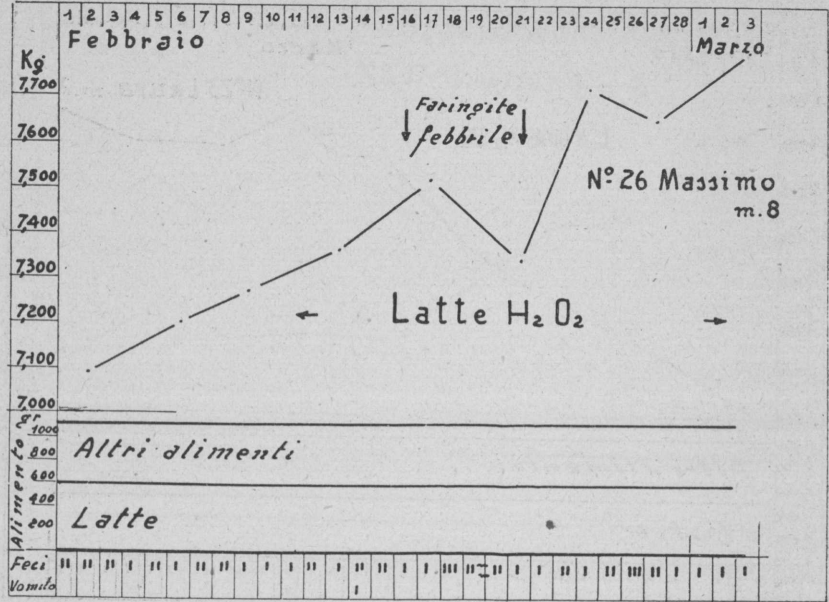
3° è da domandarsi se il migliore accrescimento riscontrato nella massima parte dei bambini ed il miglioramento delle funzioni intestinali in alcuni, non siano in rapporto con una migliore utilizzazione del latte trattato con acqua ossigenata rispetto al latte sterilizzato a bagno-maria per 15 minuti.

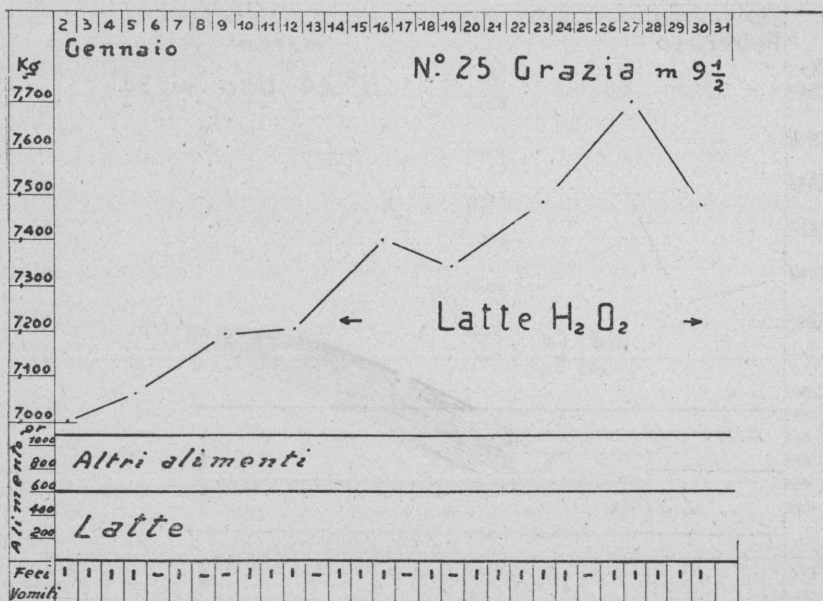
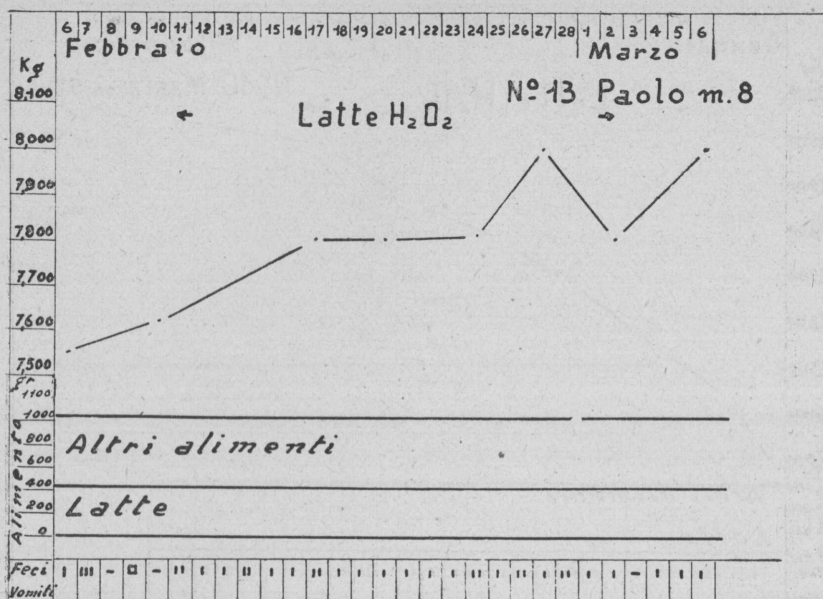




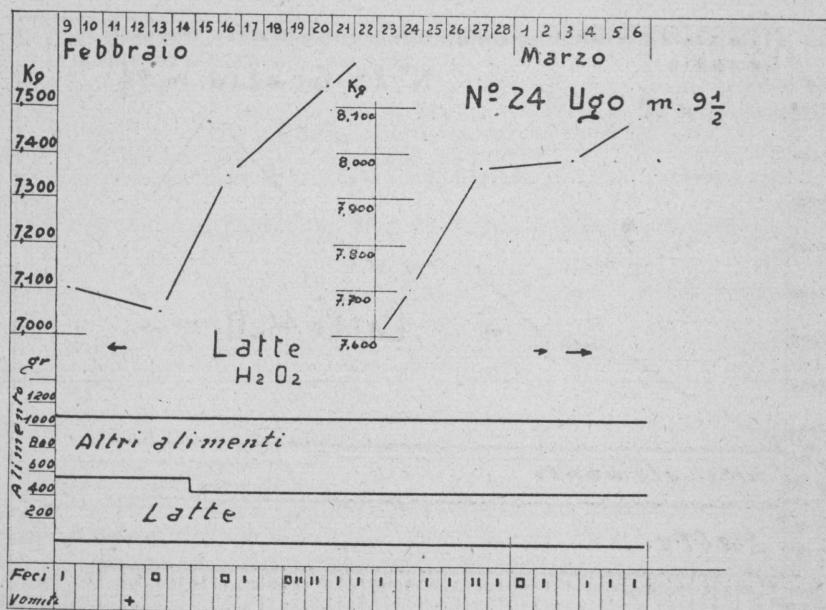
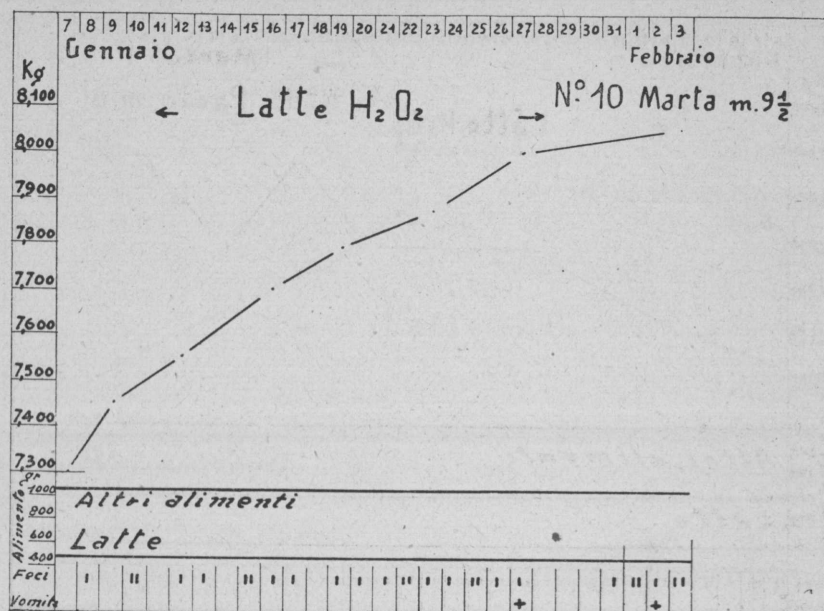


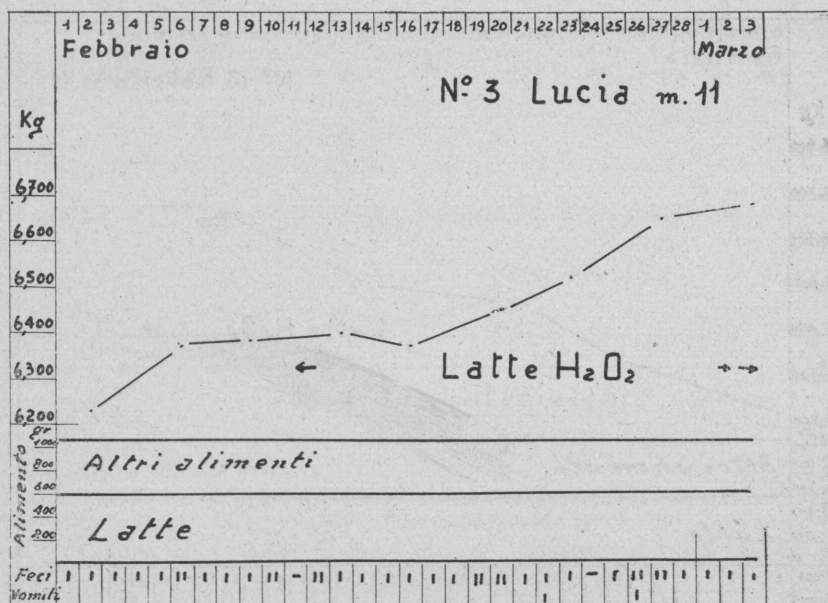
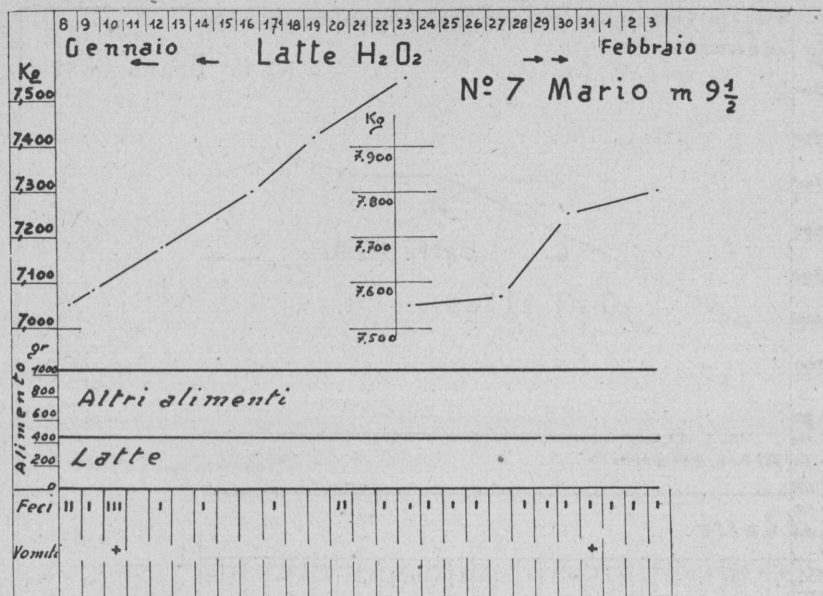
IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.



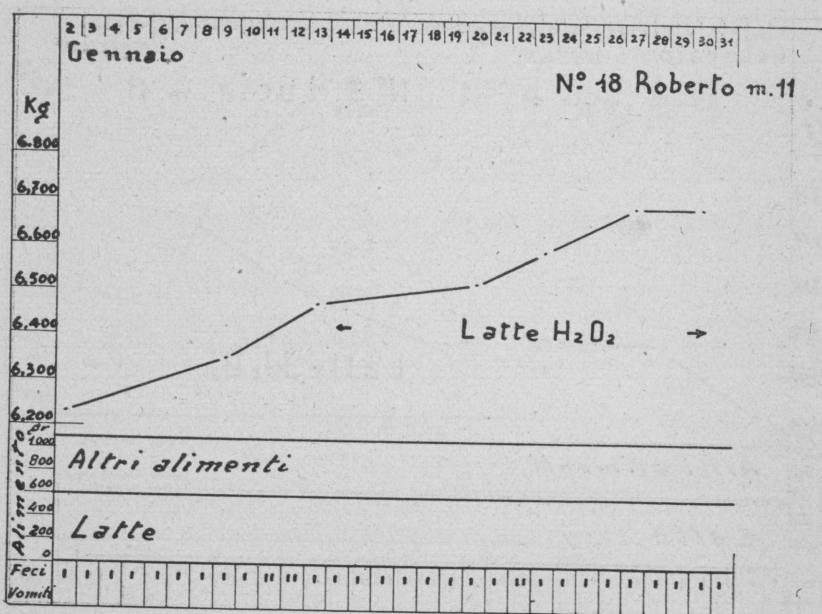
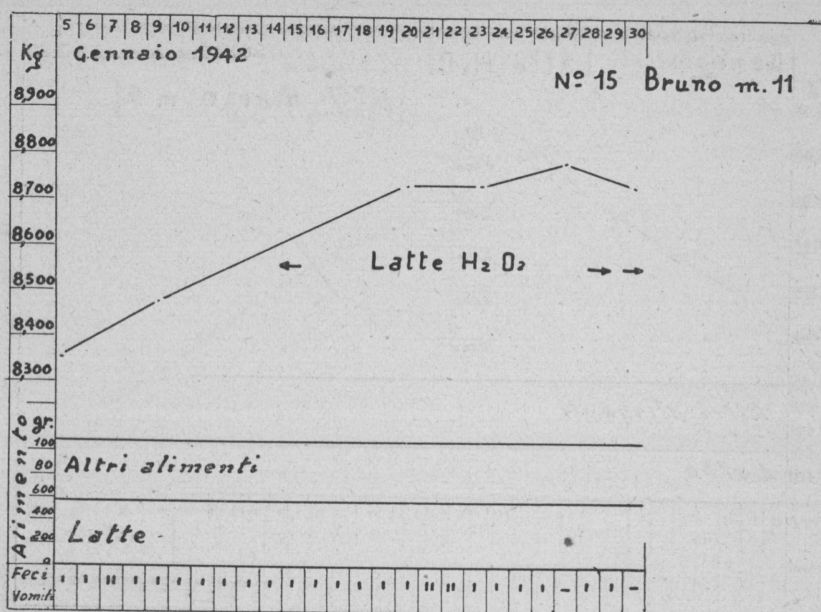


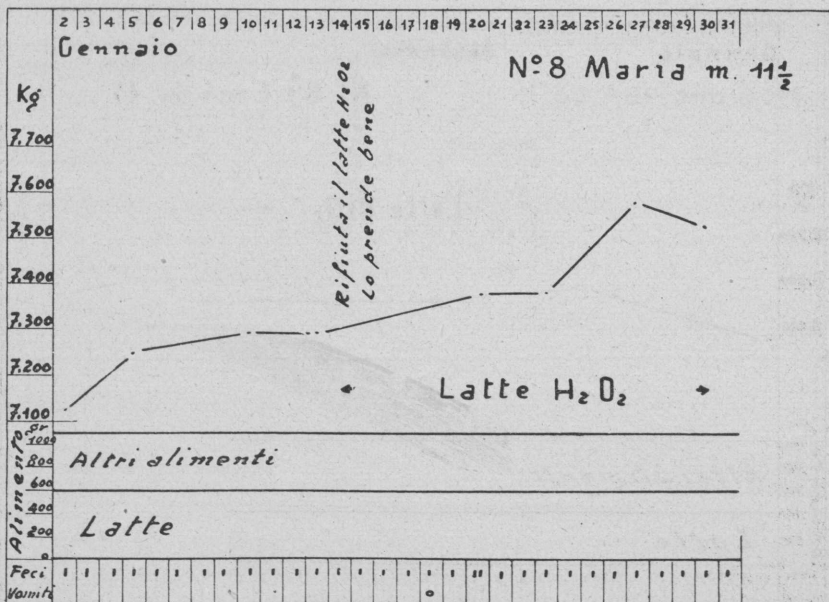
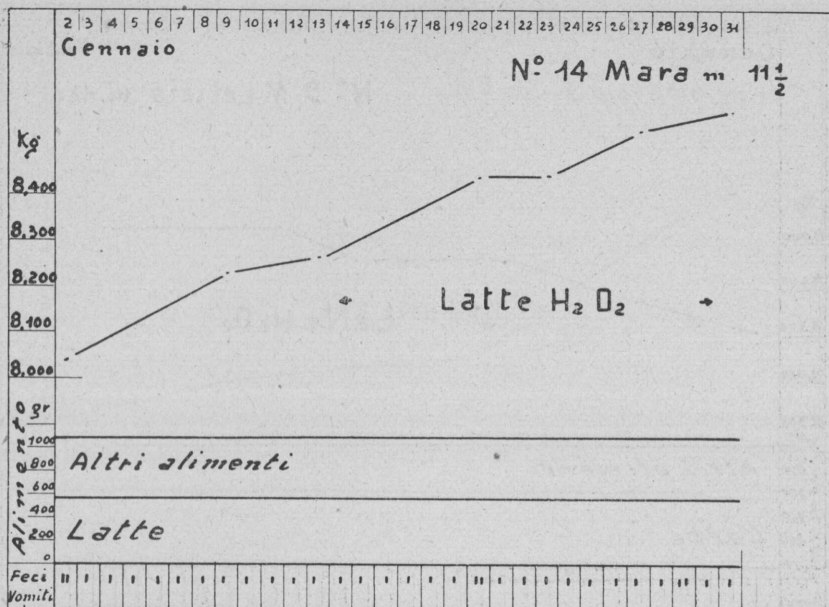
IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

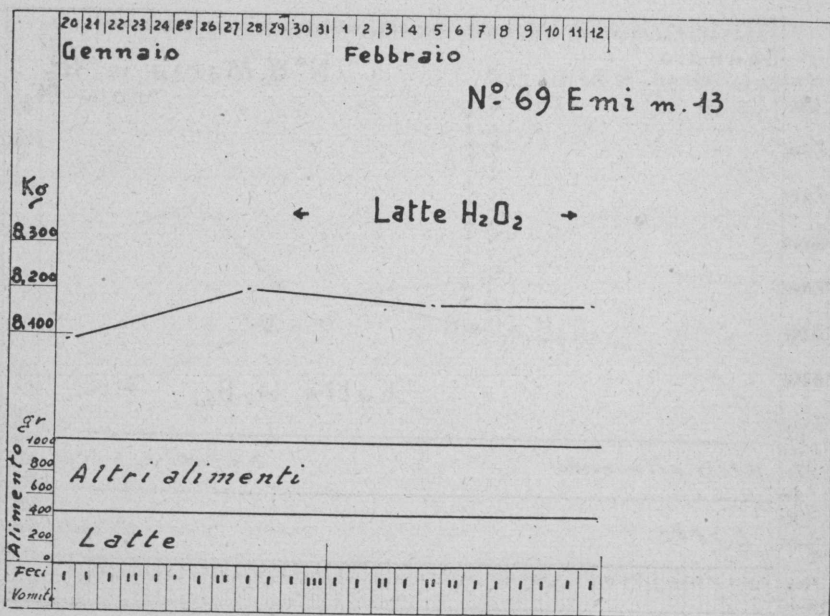
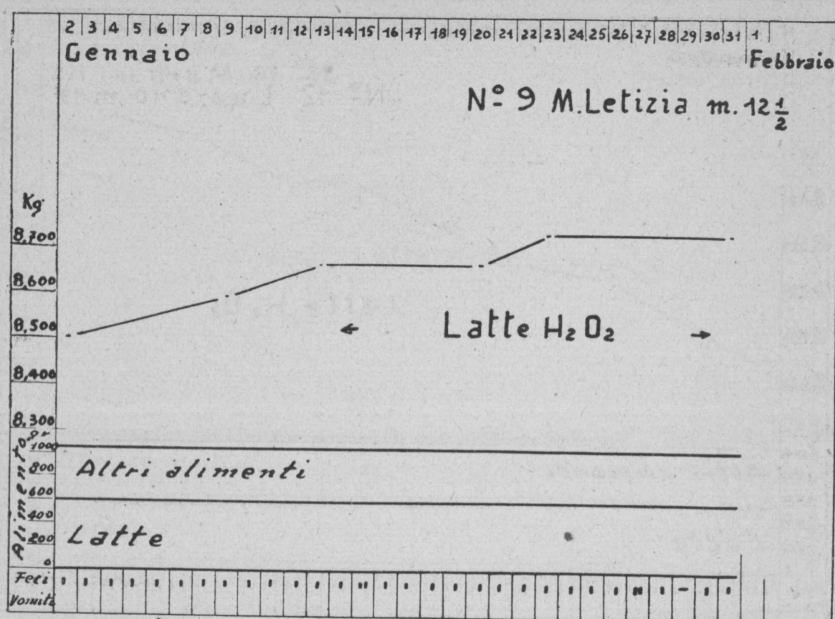


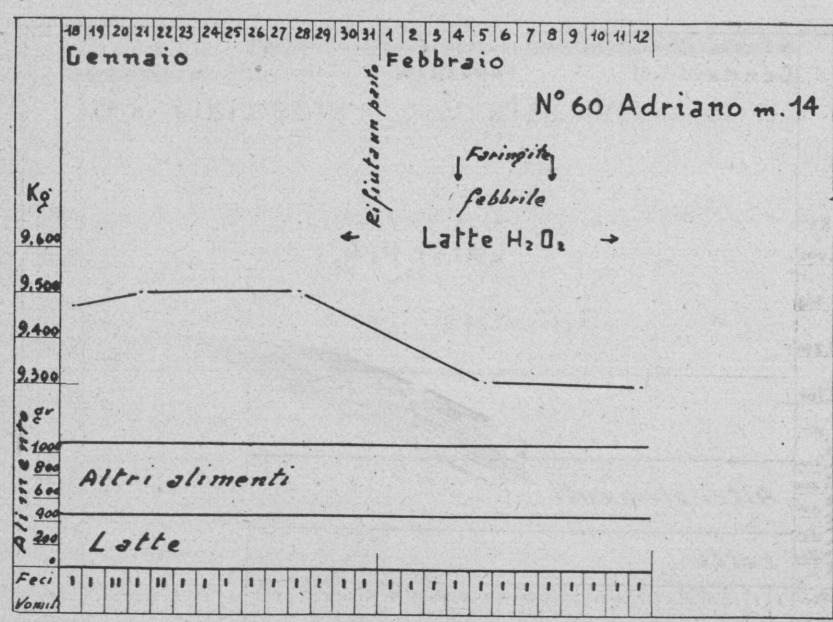
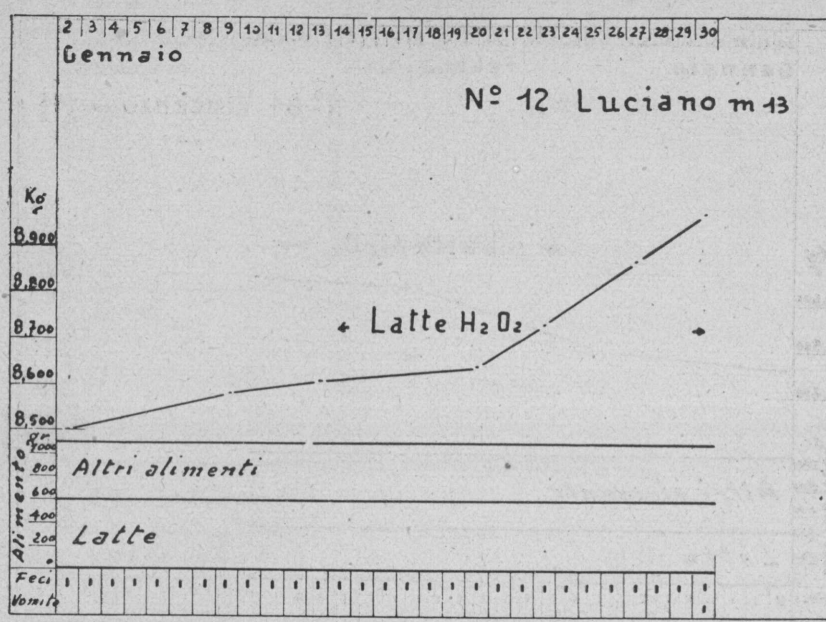


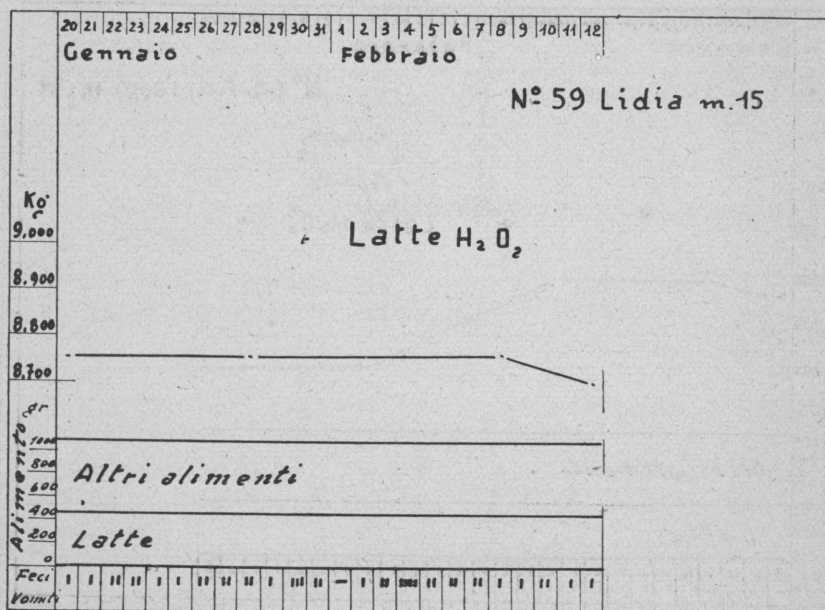
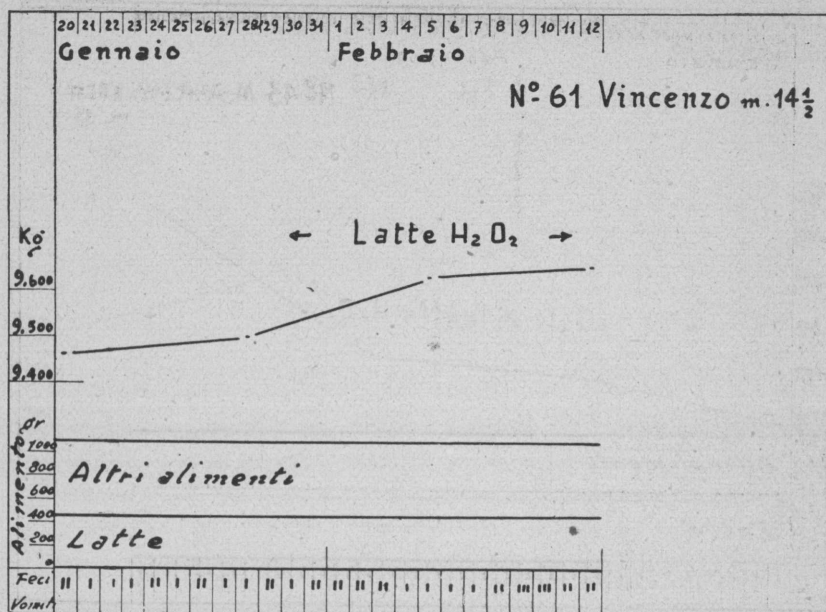
IL TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

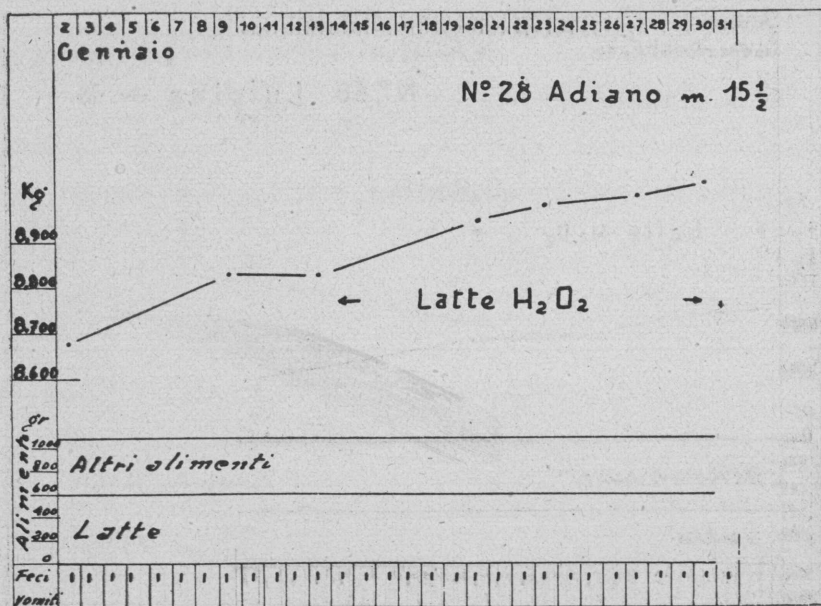
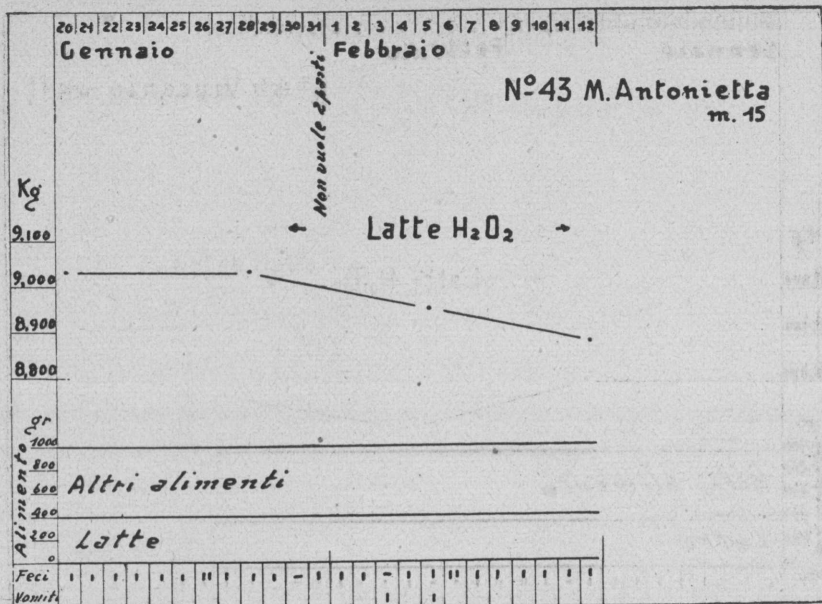




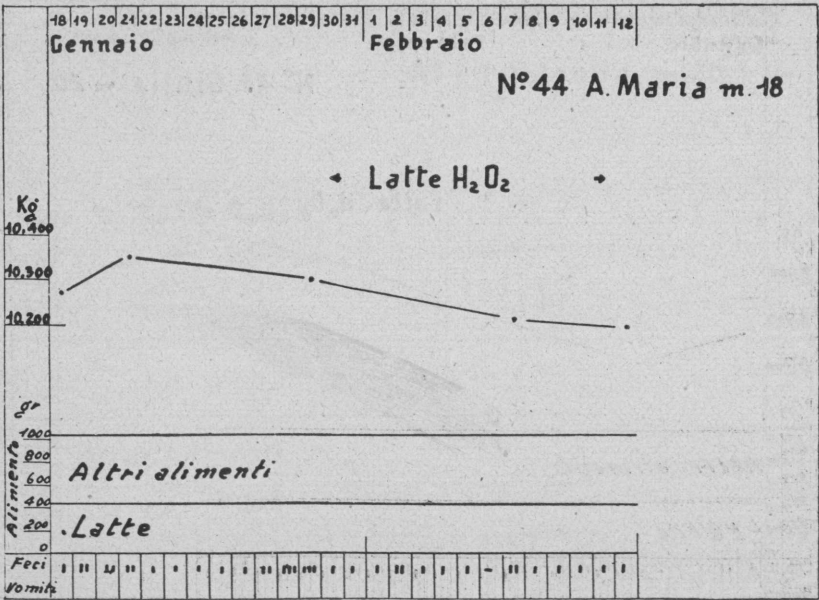
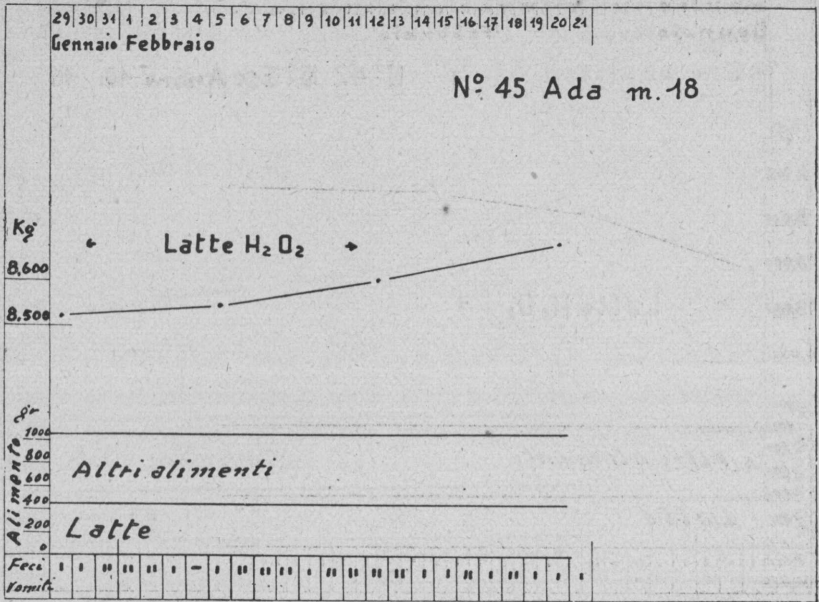


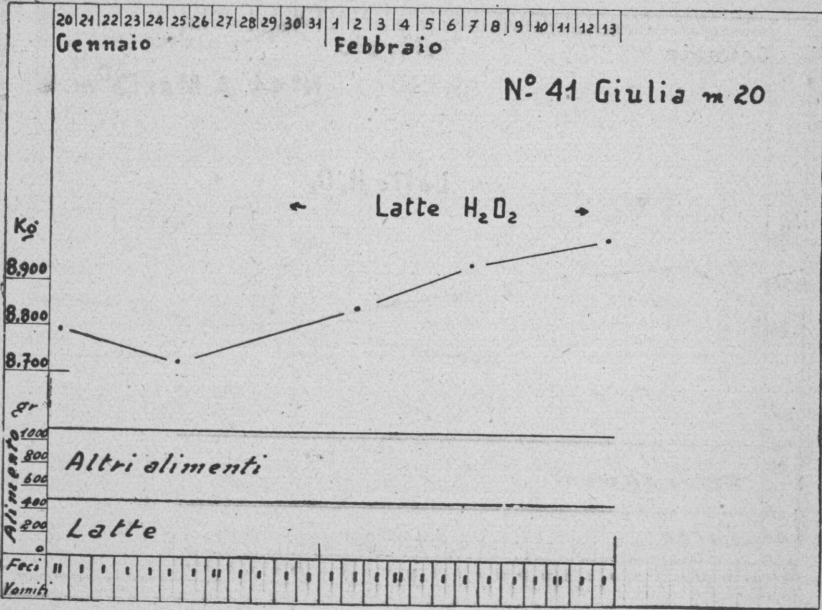
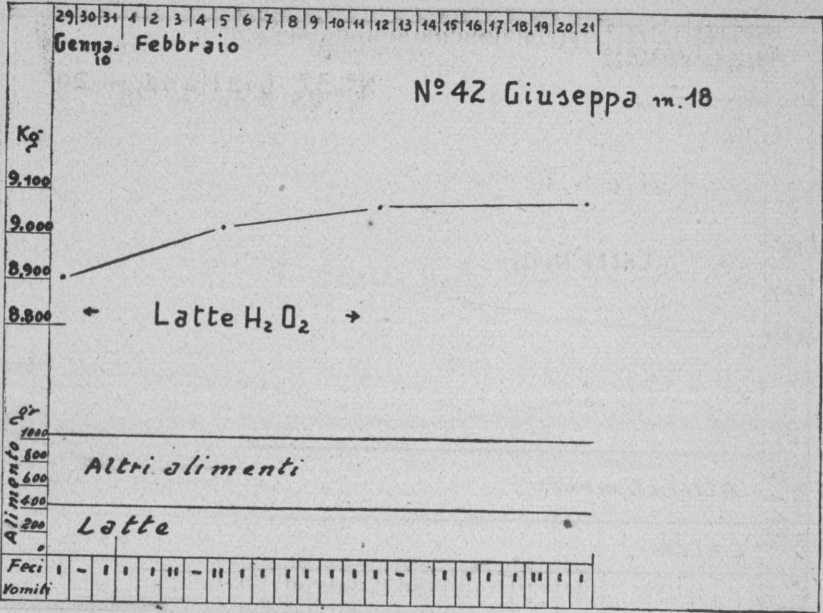


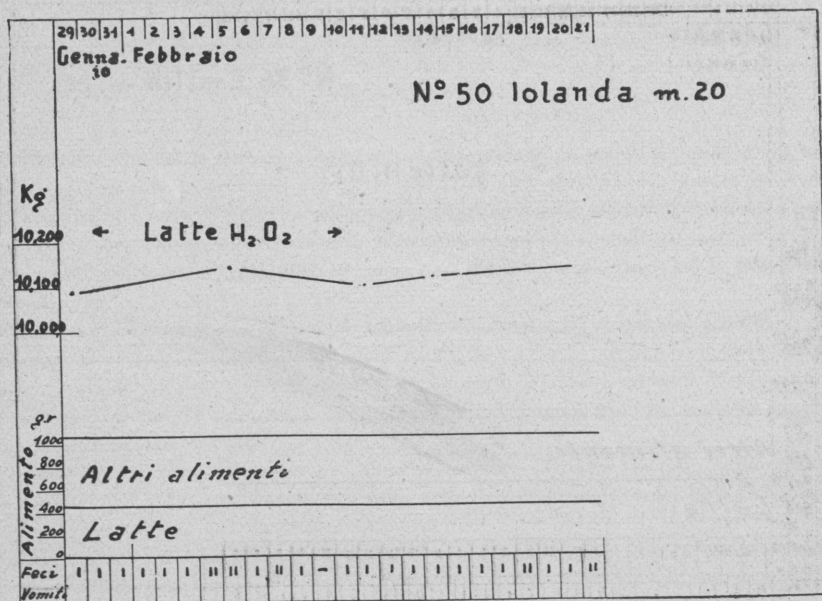
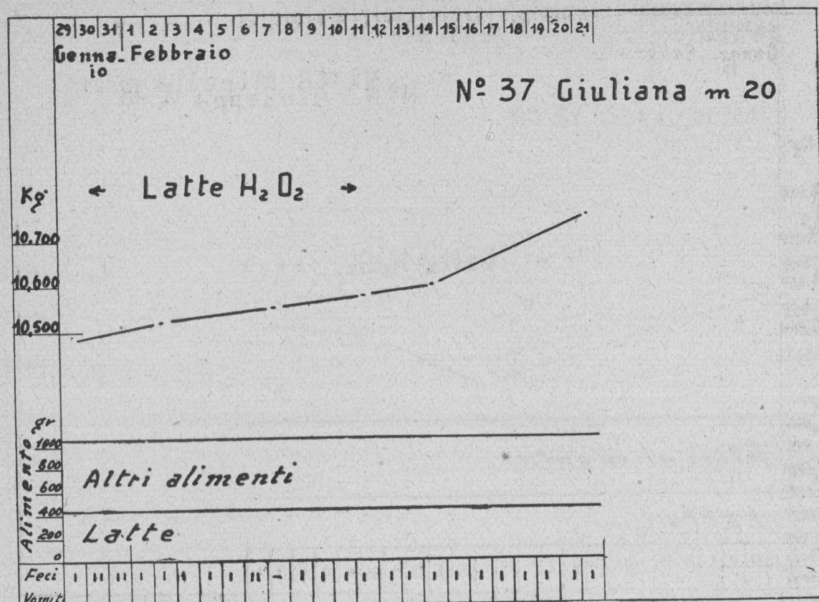


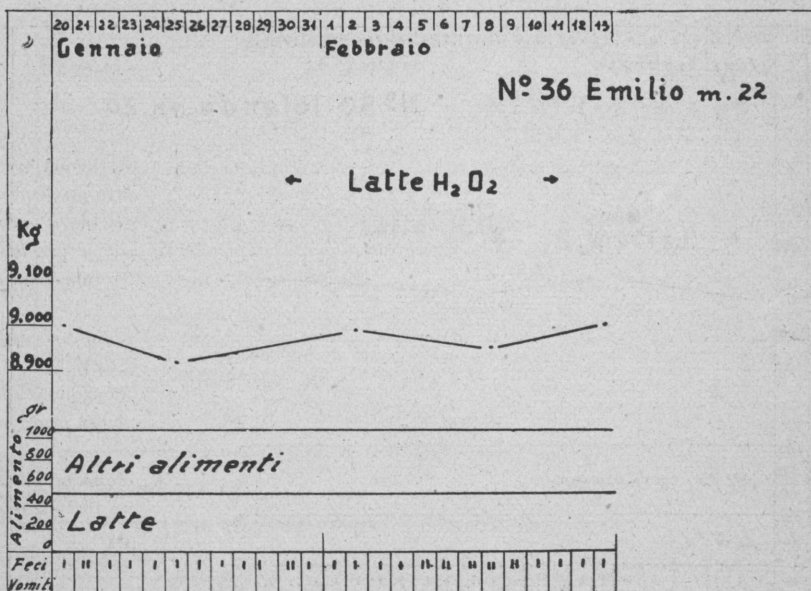
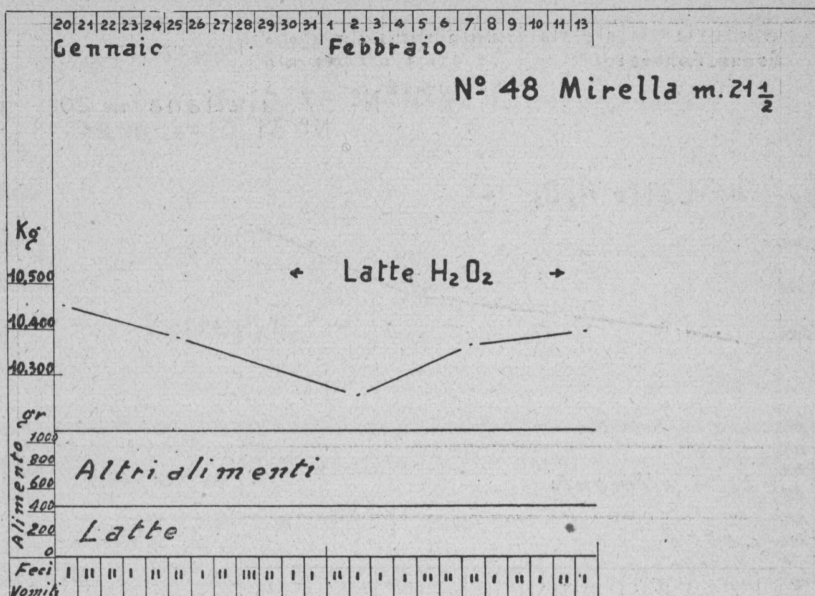


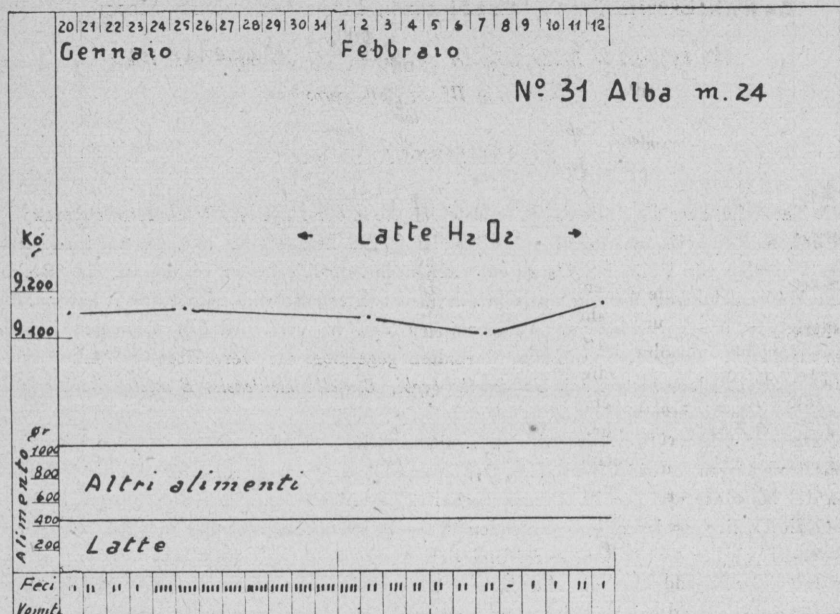












RIASSUNTO

Il fatto che l'industria italiana è oggi in grado di produrre in grandi quantità acqua ossigenata ad un elevato grado di purezza e quindi ad alta stabilità, ha indotto gli Autori ad eseguire una serie di ricerche sul potere antisettico e sulla attività battericida a varie concentrazioni e temperature, rispetto ai microrganismi più comuni nel latte, e precisamente sulla *Salmonella typhi*, sulle brucelle « *melitensis* » e « *abortus* », sul B. tubercolare tipo bovino.

È stata altresì studiata la variazione nel latte ossigenato del contenuto vitaminico, esaminando il comportamento delle vitamine A, B₁, C e D, e la variazione del pH, il comportamento della catalasi e la variazione del contenuto di lattosio nel latte. Vengono infine riportati gli studi fatti sulle dosi di acqua ossigenata da impiegare e sulle modalità pratiche per il trattamento del latte.

Segue una relazione sulle ricerche chimiche eseguite sul latte trattato, sulla stabilità e purezza dell'acqua ossigenata impiegata, sulla sua dissociazione nel latte in funzione della concentrazione e della temperatura.

Infine vengono riportati i risultati ottenuti in un esperimento di alimentazione infantile su bambini di 9-24 mesi.

Prof. ERNESTO SATTA, LUIGI MORANDI, LUIGI SATTA, DINO MOGGI.

*Die hygienische Behandlung der Milch mit auf electrolytischem Wege
gewonnenem Wasserstoffsuperoxyd.*

ZUSAMMENFASSUNG.

Die Tatsache, dass die italienische Industrie heute in der Lage ist, Wasserstoffsuperoxyd, in hohem Reinheits und daher auch Stabilitätsgrad herzustellen hat, das imstande ist, pro Volumen 130 Volumina O_2 zu entwickeln, hat die Verfasser veranlasst, eine Reihe von Untersuchungen über die antiseptische und bakterientötende Kraft des Wasserstoffsuperoxyds bei verschiedenen Temperaturen und in verschiedenen Concentrationen vorzunehmen. Geprüft wurde das Verhalten gegenüber den verbreitetsten Mikroorganismen der Milch, namentlich *Salmonella typhi*, *Brucella melitensis*, *Brucella abortus* und Bazillen der Rindertuberkulose.

Weiters wurden das Verhalten der oxygenbehandelten Milch im Bezug auf den Vitamin-gehalt, und zwar für die Vitamine A, B_1 , C, und D, die Veränderung der pH, das Verhalten der Katalase und des Milchzuckergehaltes der Milch untersucht. Schliesslich wird über die Dosierung des zu verwendenden Wasserstoffsuperoxydes und über das Vorgehen in der Praxis der Behandlung der Milch berichtet.

Es folgt ein Bericht über die chemischen Untersuchungen der behandelten Milch, über Beständigkeit und Reinheit des verwendeten Wasserstoffsuperoxyds und über dessen Dissoziation in der Milch je nach Concentration und Temperatur.

Zum Abschluss wird über die Ergebnisse berichtet, die bei dem Versuch der Ernährung von Kindern im Alter von 9-24 Monaten erzielt wurden.

Prof. ERNESTO SATTA, LUIGI MORANDI, LUIGI SATTA, DINO MOGGI.

El tratamiento higiénico de la leche con agua oxigenada electrolítica a 130 vol.

RESUMEN

El hecho que la industria italiana es hoy en grado de producir en grandes cantidades agua oxigenada a un elevado grado de pureza y por consiguiente a alta estabilidad, ha inducido los autores a ejecutar una serie de indagaciones sobre el poder antiséptico, y sobre la actividad bactericida a varias concentraciones y temperaturas, respecto a los microorganismos más comunes de la leche, y precisamente sobre la *Salmonella typhi*, sobre las brucelas « melitensis » y « abortus », sobre el bacilo tubercular tipo vacuno. Ha estado además estudiando las variaciones, en la leche oxigenada, del contenido vitamínico, examinando el comportamiento de las vitaminas A, B_1 , C y D y las variaciones del pH, el comportamiento de la catalasis y la variación del contenido del lactosio en la leche. Vienen enfin reportados los estudios hechos sobre la dosis de agua oxigenada de emplear y sobre las modalidades prácticas para el tratamiento de la leche.

Sigue una relación sobre las investigaciones químicas, efectuadas sobre la leche tratada, sobre la estabilidad y pureza del agua oxigenada empleada, sobre su disociación en la leche en función de la concentración y de la temperatura.

Enfin, vienen reportados los resultados obtenidos en un experimento de alimentación infantil sobre bebés de 9-24 meses.

II. TRATTAMEN-
TO IGIENICO
DEL LATTE ECC.

Prof. ERNESTO SATTA, LUIGI MORANDI, LUIGI SATTA, DINO MOGGI

Le traitement hygiénique du lait par l'eau oxygénée électrolytique à 150 vol.

RÉSUMÉ

Le fait que l'industrie italienne est aujourd'hui en mesure de produire une grande quantité d'eau oxygénée à un degré de pureté très élevée et donc d'une grande stabilité, a poussé les AA. à faire une série de recherches sur ses pouvoirs antiseptiques et bactéricides en différentes concentrations et températures relatifs aux microorganismes les plus communs du lait et précisément la *Salmonella typhi*, la *Brucella melitensis* et *abortus*, le B. de la tuberculose du type bovin.

En outre les AA. ont étudié dans le lait oxygéné les variations subies par les vitamines, le comportement des vitamines A, B₁ C, et D, et les variations du pH., le comportement de la catalase et les variations du lait en contenu de lactose. On parle ensuite des doses de l'eau oxygénée qu'on doit employer et des méthodes pratiques pour le traitement du lait. Ensuite suit un rapport sur les recherches chimiques faites sur le lait oxygéné, sur la stabilité et la pureté de l'eau oxygénée, sur sa dissociation dans le lait par rapport à la concentration et la température.

Enfin sont rapportés les résultats obtenus dans l'alimentation des enfants de 9-24 mois.

K2Θ. ERNESTO SATTA, LUIGI MORANDI, LUIGI SATTA, DINO MOGGI.

Ἀναμίξις τοῦ γάλακτος μετὰ ἠλεκτρολυτικὸν ὀξυγονούχον ὕδωρ 150 ὀγκων.

ΠΕΡΙΛΗΨΙΣ.

Οἱ συγγραφεῖς ἀναφέρουν σειρὰν ἐρευνῶν, τὰς ὁποίας οἱ ἴδιοι διεξήγαγον ἐπὶ τῆς μικροβιολογικῆς ἰκανότητος τοῦ ὀξυγονούχου ὕδατος καὶ τῆς ἀντισηπτικῆς αὐτοῦ δυνάμεως, εἰς διαφόρους συγκεντρώσεις καὶ θερμοκρασίας, ἐν σχέσει πρὸς τοὺς κοινωτέρους μικροοργανισμοὺς τοῦ γάλακτος, παρκαλυπθύνοντες τὴν μεταβολήν, τὴν ὁποίαν παρουσιάζει τὸ βιολογικὸν περιεχόμενον εἰς τὸ ὀξυγονούχον γάλα.

Ἀναφέρουν πρὸς τοῦτοις τὰς μελέτας τὰς γενομένας ἐπὶ τῶν δόσεων τοῦ χρησιμοποιοῦμένου ὀξυγονούχου ὕδατος καὶ ἐπὶ τοῦ πρακτικοῦ τρόπου τῆς ἀναμίξεως τοῦτου μετὰ τὸ γάλα, καὶ παρέχουν εἰδήσεις περὶ τῶν κλινικῶν ἐρευνῶν τῶν γενομένων ἐπὶ τοῦ οὗτω πως παρσκευασθέντος γάλακτος, ἐπὶ τῆς στεινότητος καὶ καθαρότητος τοῦ χρησιμοποιηθέντος ὀξυγονούχου ὕδατος, ἐπὶ τῆς διασπάσεώς του ἐν τῷ γάλακτι, ἐξ αἰτίας τῆς συγκεντρώσεως καὶ τῆς θερμοκρασίας.

百三十倍の過酸化水素水
を使用しての牛乳の操作

エ・サツタ氏 エル・モラダ氏
エル・サツタ氏 デイ・モツダ氏

著者は牛乳の、最も普通の微
生物に、関する過酸化水素水の
、防腐性と殺菌力に、就いて
の彼の、一聯の研究を陳述して
ゐる。

この研究中にあつて、彼は、
又、各種の温度、又は各種の、

濃度に於いて、使用されたる、
過酸化水素水を、使用して、こ
の過酸化水素を、加へたる、場
合の、牛乳の中に存在する、ビ
タミンの含有量の、変化を觀察
してゐる。

その他、如何なる分量の過酸
化水素水が使用されるべきや、又
如何なる方法で牛乳に作用さす
べきやを研究して、各種の貴重
なる資料を獲得してゐるのであ
る。

Esemplare fuori commercio per
la distribuzione agli effetti di
legge.

