

# Ricerche microbiologiche sui formaggi molli italiani

I - OSSERVAZIONI SUL QUARTIROLO DI MONTE

**C. Arnaudi      E. Corberi      H. Soares Rodrigues**

(Ricevuto il 1° Dicembre 1940 - XIX)

Le ricerche sui formaggi molli italiani non sono numerose e quanto riguarda la microflora tipica ed il suo intervento nei processi di maturazione, è stato oggetto di pochi studi, la massima parte dei quali riguarda il gorgonzola. Questo formaggio, è stato studiato infatti, già alla fine del secolo scorso, dal lato tecnologico, chimico e microbiologico. Ricorderemo i lavori di Musso e Menozzi (1), Maggiore Vergano (2), Samarani (3), Arnaudi (4-5), De Tomasi (6), Bondioli (7), Caserio ed Erba (8), che stabilirono le caratteristiche chimiche e biologiche della maturazione di questo tipico formaggio italiano. Dobbiamo poi a Gorini (9-10-11-12) fruttuose ricerche sugli agenti microbici di varie alterazioni del gorgonzola e sulle relative prevenzioni. Fra gli altri pochi lavori riguardanti i formaggi molli nostrani, vanno ricordati quello di Pascetti (13) sul Castelmagno e quelli di Sacchetti (14-15), a carattere nettamente microbiologico, su un formaggio di Castel S. Pietro (Bologna).

È sembrato cosa utile pertanto, al fine di contribuire alla razionalizzazione della tecnologia dei formaggi molli, di intraprendere ricerche sistematiche sui più importanti formaggi molli italiani.

Abbiamo iniziato la serie con il *quartirolo di monte*, scegliendo un tipo che riproduce in modo prevalente le caratteristiche dell'antico quartirolo di monte, conservato ormai da pochi produttori (\*)

L'antico quartirolo era caratterizzato specialmente dal tipo di latte con il quale veniva preparato. Esso proveniva da mandrie che, salite ai pascoli alpini, erano nutrite con la *quarta erba*, chiamata appunto «quartirolo» e che per la sua composizione floristica è particolarmente atta a conferire al latte un aroma tipico che passa ai derivati caseari. Attualmente il comune quartirolo è fabbricato con latte d'ogni stagione e d'ogni taglio di erba: soltanto la forma (quadrata e non eccessivamente spessa) ripete le caratteristiche del tipico quartirolo di monte.

Il formaggio viene fornito in genere da piccoli casari, che provvedono

---

(\*) Il quartirolo di monte da noi studiato è il così detto Taleggio Cademartori prodotto in Valsassina, Val Varrone e Val Taleggio, che è stato stabilizzato nei suoi caratteri tipici attraverso la regolazione delle varie fasi di maturazione.

direttamente alla cagliatura del latte intero appena munto — cioè a temperatura naturale —. La cagliatura viene fatta con un presame distribuito dalla Casa che provvederà alla maturazione e viene provocata in apposite forme distribuite e controllate periodicamente dalla Casa stessa. Le forme fresche vengono sistemate in apposite casse che sono poi impilate in celle riscaldabili d'inverno e dove la temperatura estiva oscilla fra 8° e 12° C.

In questa prima fase della maturazione ha luogo lo spurgo, mediante il quale il formaggio perde gran parte del siero e si ricopre di una lieve muffa bianca, umida, dall'aspetto di velo opaco. L'abilità tecnica del maturatore consiste nell'apprezzare il momento giusto per arrestare questa cosiddetta «fioritura», che viene determinato al tatto, apprezzando la tipica gommosità e viscosità della superficie del formaggio in questo momento. Le forme vengono allora portate in altro ambiente, più freddo più caldo a seconda della stagione, nel quale si praticano la prima e la seconda salatura. La terza salatura ha luogo in un ambiente comune. Per ogni quintale di prodotto fresco occorrono da 4 a 5 kg. di sale. Il formaggio passa quindi alla stagionatura nelle grotte. Queste caverne naturali si aprono nelle anfrattuosità della montagna e sono assai frequenti in Valsassina. La pavimentazione è mantenuta in acciottolato e ghiaia e assai spesso si trovano nelle pareti profonde fessure che comunicando con altre caverne, esistenti nell'interno della montagna, recano di continuo aria umida e fresca che mantiene un grado di temperatura e di umidità costante.

Nelle grotte di maturazione sono adattate delle impalcature in legno che consentono la sistemazione del formaggio, che viene periodicamente rivoltato, pulito con acqua salata e selezionato, allo scopo di eliminare gli scarti.

Il formaggio maturo presenta una pasta d'aspetto burroso a crosta leggermente piccante, ricoperta da una muffa di color rosso mattone, che è caratteristica del formaggio e che lascia al tatto una intensa e vivace colorazione giallo-rossastra.

A questo tipico ammuffimento viene attribuito dai pratici una grande importanza nell'andamento della maturazione: infatti quando esso non ha luogo regolarmente, il formaggio assume un sapore amaro ed acidulo.

Al termine della stagionatura, la crosta del formaggio si presenta in modo diverso — a seconda è più o meno asciutto —. In quest'ultimo caso la crosta assume un aspetto scaglioso e polverulento.

La maturazione e la stagionatura si compiono normalmente in 40-60 giorni.

Sulla base di queste notizie, raccolte presso i caseifici che si occupano della maturazione e stagionatura del formaggio, abbiamo elaborato un piano di osservazioni e rilievi, atti a determinare le variazioni cui soggiace la microflora del quartirolo durante le varie fasi di preparazione e di maturazione. Le nostre osservazioni sono state compiute su molti campioni, prelevati a diversi gradi di maturazione, e riguardano rilievi microscopici diretti, esami microbiologici e chimici.

La ricerca microbiologica si è proposta di accertare la carica complessiva dei micròbi presenti nel formaggio nei tre stadi di maturazione e le forme microbiche che assumono un carattere tipico e prevalente. Nelle nostre intenzioni, le ricerche microscopiche dirette dovevano integrare lo studio microbiologico e contribuire a dare un'idea dei raggruppamenti naturali che alcuni micròbi possono assumere nel formaggi. Infine, i sommari saggi chimici sono stati fatti al fine di confrontare il quartirolo di monte, con i similari formaggi molli, italiani e stranieri.

I campioni usati appartenevano, come si è detto, a tre stadi di maturazione: 1) a sei giorni dalla cagliatura; 2) a quindici giorni dalla cagliatura; 3) formaggio maturo. Per ogni fase abbiamo esaminato la crosta, la pasta immediatamente sotto la crosta e quella della zona centrale.

L'aspetto ed i caratteri dei campioni erano i seguenti: 1) Campione di sei giorni: forma quadrangolare, pastapoco consistente ed elastica, odore e sapore di latticello; qua e là, rari ciuffi di muffa bianca. 2) Campione di quindici giorni: forma quadrangolare, pasta alquanto più elastica, odore poco pronunciato, sapore più salato del campione precedente; in superficie, ciuffi di muffa bianca e rossiccia. 3) Campione maturo: forma quadrangolare, pasta più asciutta, di consistenza burrosa. Lieve odore di tartufo, sapore di formaggio maturo sapido e lievemente piccante. In superficie, prevalenza della muffa rosso mattone. Nelle anfrattuosità della crosta, piccole macchie di muffa bianca a riflessi verdastri.

#### CONTEGGIO DELLA MICROFLORA TOTALE

Il procedimento seguito per rilevare il numero di micròbi contenuti in un gr. di formaggio è consistito nella numerazione delle colonie cresciute entro otto giorni, in piastre allestite coi più comuni terreni culturali a diverse diluizioni, partendo da materiali provenienti dai tre stadi di maturazione.

Un pezzetto di formaggio prelevato asetticamente veniva pesato su piastra sterile e quindi spappolato in mortaio con acqua sterile, in modo da ottenere una sospensione omogenea corrispondente a 1/10 del peso. Da questa sospensione si derivavano le successive diluizioni necessarie per allestire le piastre. I valori raccolti nella tabella N. 1 rappresentano la media dei valori di tre determinazioni fatte a tre diluizioni diverse. Le piastre di agar comune, agar al siero di latte ed agar latte vennero messe ad incubare a 37° C.; quelle di agar malto ed agar Carugati a 30° C. La lettura veniva fatta dopo 24 ore e ripetuta dopo cinque ed otto giorni.

Dai valori sopra esposti emergono alcuni fatti: fin dal sesto giorno, nella parte centrale del formaggio sono presenti microrganismi in grande quantità; il loro numero aumenta dai primi stadi fino al 15° giorno, per poi decrescere notevolmente. Indipendentemente dallo stadio di maturazione, appaiono più numerosi i micròbi che crescono in agar comune ed in agar malto. Assai minori sono quelli che si sviluppano nel latte e nel siero agarizzato. Pare che sia possibile rilevare una certa proporzione fra il numero

TABELLA I

Terreni nutritivi	NUMERO DEI MICRORGANISMI		
	Campione di 6 giorni	Campione di 15 giorni	Campione maturo
Agar comune . . . . .			
sopra crosta . . . . .	29.800.000	67.000.000	168.000.000
sotto crosta . . . . .	79.000.000	69.500.000	22.500.000
centro . . . . .	69.000.000	202.400.000	27.500.000
Agar malto . . . . .			
sopra crosta . . . . .	126.000.000	210.000.000	190.200.000
sotto crosta . . . . .	138.000.000	104.000.000	24.000.000
centro . . . . .	152.000.000	160.000.000	131.000.000
Agar siero latte . . . . .			
sopra crosta . . . . .	25.200.000	54.900.000	97.500
sotto crosta . . . . .	12.000.000	90.000.000	1.175.000
centro . . . . .	26.300.000	84.000.000	4.750.000
Agar latte . . . . .			
sopra crosta . . . . .	7.000.000	29.700.000	3.800.000
sotto crosta . . . . .	44.000.000	22.500.000	39.000.000
centro . . . . .	12.000.000	89.500.000	69.000.000
Agar Carugati . . . . .			
sopra crosta . . . . .	12.500.000	35.000.000	1.700.000
sotto crosta . . . . .	27.000.000	235.000.000	4.650.000
centro . . . . .	88.000.000	321.000.000	1.800.000

delle colonie acidificanti sviluppatasi nel terreno Carugati e quelle nate negli altri mezzi nutritivi. Nei primi stadi (6-15 giorni) il numero delle colonie di acidificanti sviluppatasi in agar Carugati è sensibilmente uguale (per uno stesso prelevamento) a quello delle colonie nate negli altri terreni sopra menzionati. Negli ultimi stadi invece, la proporzione esistente è di gran lunga più bassa per gli acidificanti, fatto che è coerente con l'andamento della maturazione. Questo rilievo è confermato pure dalla determinazione della acidità attuale della pasta, il cui valore determinato potenziometricamente è risultato essere di:

- pH 5,5 per il campione di 6 giorni;
- pH 5,8 per il campione di 15 giorni;
- pH 6,3 per il campione di formaggio maturo.

Anche per quanto riguarda lo sviluppo dei micròbi della crosta si constata una forte diminuzione dei microrganismi caseari nei campioni di formaggio maturo rispetto ai precedenti di sei e di quindici giorni, mentre i microrganismi sviluppatasi in agar comune subiscono un progressivo aumento e quelli nati in agar malto si mantengono in numero pressochè costante.

Per quanto riguarda la quantità di micròbi dell'interno della pasta, si rileva una curva che ha il suo massimo nei campioni di 15 giorni, ed una caduta, specialmente spiccata per il gruppo dei caseari (sviluppatissimi in agar al siero di latte) nel formaggio maturo.

#### RAGGRUPPAMENTI MICROBICI CONSTATATI

Utilizzando le piastre allestite per il conteggio e particolarmente quelle fatte con le diluizioni più alte, presentanti un esiguo numero di colonie, è stato possibile di constatare (con approssimazione molto relativa), la proporzione esistente fra i principali raggruppamenti di microrganismi. I risultati di tali rilievi sono raccolti nella tabella N. 2.

Dall'esame dei risultati raccolti nella tabella N. 2 si possono trarre de-

TABELLA II

Raggruppamenti microbici	Origine del campione	Campione di 6 giorni			Campione di 15 giorni			Campione maturo		
		Ac.	Acpr.	Prot.	Ac.	Ac.pr.	Prot.	Ac.	Ac.pr.	Prot.
Cocchi . . . .	sopra crosta	3	1	—	6	—	—	3	3	5
	sotto crosta	3	—	—	8	—	1	4	—	—
	centro	4	—	—	8	—	—	1	1	—
Bacilli tipo Bulgar.	sopra crosta	—	—	—	6	—	—	1	—	—
	sotto crosta	—	—	—	—	—	—	1	—	—
	centro	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Bacilli sporificati .	sopra crosta	—	—	5	—	—	4	—	—	3
	sotto crosta	—	—	1	—	—	1	—	—	—
	centro	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Lieviti . . . .	sopra crosta	—	—	—	9	7	—	2	3	—
	sotto crosta	2	—	—	1	—	—	1	1	—
	centro	1	—	—	—	—	—	—	—	—
Streptotricce . . .	sopra crosta	—	—	—	—	—	1	—	—	1
	sotto crosta	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	centro	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Ifomiceti . . . .	sopra crosta	—	—	—	—	—	1	—	—	3
	sotto crosta	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	centro	—	—	—	—	—	—	—	—	—

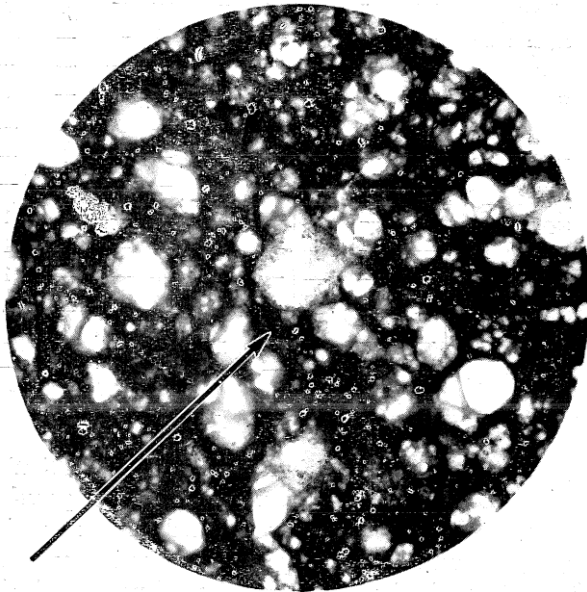
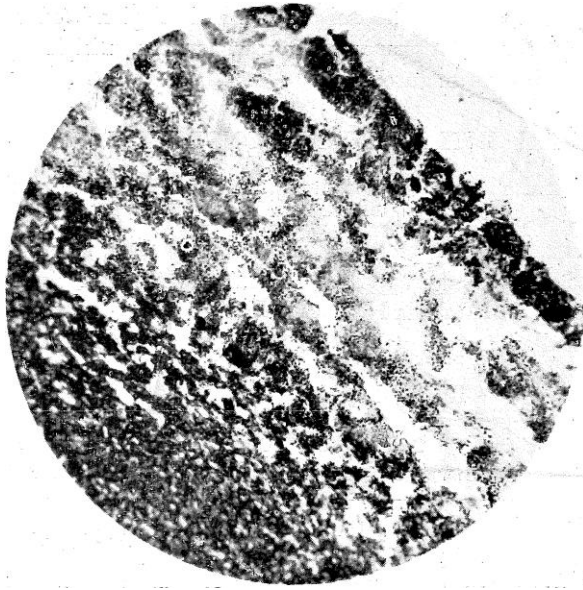
Ac. = acidificanti

Acpr. = Acidoproteolitici

Prot. = Proteolitici

duzioni che sono coerenti con i rilievi compiuti con l'analisi quantitativa prima esposta. Appare infatti evidente come in un primo tempo prevalga l'attività dei microrganismi acidificanti che hanno un predominio numerico sugli altri micròbi presenti. In un secondo tempo, tale predominanza tende a diminuire e si ha la comparsa degli acidoproteolitici e dei proteolitici, che

*Sezione di Quar-  
tirolo di monte  
(formaggio di  
8 giorni) ingr.  
280.*



*Sezione di Quar-  
tirolo di monte  
(formaggio di  
8 giorni) ingr.  
600.*

*Sezione di Quar-  
tirolo di monte  
(formaggio di  
15 giorni) ingr.  
600.*



*Sezione di Quar-  
tirolo di monte  
(formaggio ma-  
turo) ingr. 600.*

nella fase finale assumono un netto predominio mentre si va affermando l'azione della microflora superficiale tipicamente ifomicetica che esplica essa pure una spiccata attività proteolitica.

## RICERCHE MICROSCOPICHE

La dimostrazione della funzione dei microrganismi nella maturazione dei formaggi e della loro distribuzione nella massa, a guisa di coloniette naturali, è stata data da tempo dal Gorini soprattutto per i formaggi a pasta dura (grana) con l'esame di sezioni ottenute al microtomo da pezzetti di formaggio, fissati con una tecnica analoga a quella che si usa in istologia (16).

Per il quartirolo di monte abbiamo voluto impiegare una tecnica simile onde vedere se fosse possibile accertare la distribuzione dei microrganismi durante le varie fasi di maturazione. A questo scopo abbiamo fatto sezioni di campioni di formaggio di 6, 15 giorni e di formaggio maturo. La tecnica impiegata è stata la seguente: dai campioni venivano tagliati dei pezzetti di formaggio di forma cubica di circa un cm di lato che venivano posti nei seguenti liquidi fissativi per i tempi sotto indicati:

Formalina . . . . .	Ore	96
Alcool a 70° . . . . .	»	24
» » 80° . . . . .	»	12
» » 95° . . . . .	»	6
» assoluto I . . . . .	»	4
» » II . . . . .	»	2
Olio di anilina . . . . .	»	12-16
Toluolo . . . . .	»	2
Paraffina 44°-46° . . . . .	»	4
» 56°-58° . . . . .	»	2-3

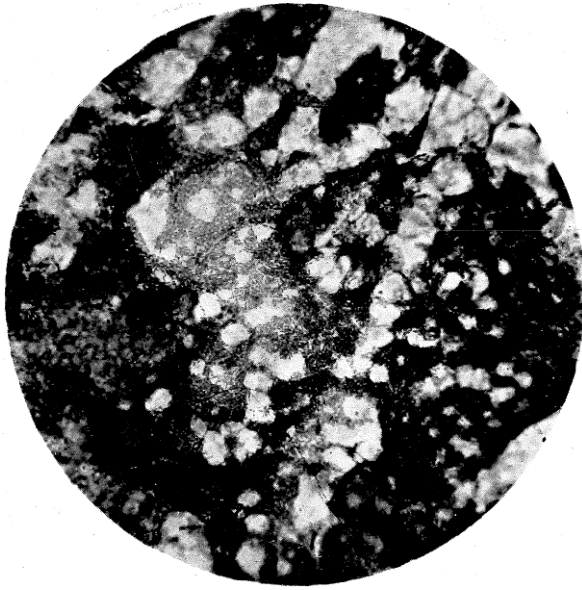
Tagli al microtomo di sezioni aventi come spessore 4 ÷ 8 micron.

Le sezioni venivano montate su ventrini porta-oggetti accuratamente puliti (bicromato di potassio, acido solforico. Lavaggio con acqua e poi con alcool) e quindi asciugati.

Dopo il montaggio, abbiamo proceduto alla sparaffinatura con il seguente procedimento:

Toluolo I . . . . .	10-15 minuti secondi
» II . . . . .	10-15 » »
Alcool assoluto . . . . .	10 » »
» » a 95° . . . . .	10 » »
» » » 80° . . . . .	10 » »
» » » 60° . . . . .	10 » »
Acqua corrente . . . . .	3-4 » primi
Risciacquo breve con acqua distillata.	
Colorazione con blu di Löffler	





Sezione di Quartiolo di monte (formaggio maturo) in gr. 600.

Acqua corrente . . . . .	3-4	»	primi
Risciacquo con acqua distillata			(sino a diffe-
Alcool a 80° . . . . .	3-4	»	» renziazione)
» » 95° . . . . .	1-2	»	»
» assoluto I . . . . .	1-2	»	»
» » II . . . . .	1-2	»	»
Toluolo . . . . .	1-2	»	»
Montaggio in balsamo . . . . .	1-2	»	»

Dalle osservazioni dei preparati, si può notare come fino al sesto giorno si trovino diffuse nella massa del formaggio delle colonie costituite per la massima parte da cocchi. Tali colonie naturali appaiono nettamente separate le une dalle altre.

Sulla superficie della crosta si nota l'attecchimento ed il diffondersi di ifomiceti. Nei preparati provenienti da formaggio di 15 giorni e da quello maturo, si può osservare il progredire dello sviluppo di ifomiceti che penetrano anche lievemente nella massa del formaggio. Nei preparati di formaggio maturo, le colonie schizomicetiche sono numerose e tendono a confluire. L'aspetto del preparato è tale per cui si direbbe che tutta la massa del formaggio è costituita da corpi microbici.

## RILIEVI CHIMICI

I rilievi chimici sono stati eseguiti su campioni di sei giorni e su formaggio maturo. I risultati raccolti nella tabella N. 3 prendono in considerazione l'umidità, i grassi, il cloruro sodico, l'azoto totale, le sostanze proteiche, l'azoto solubile e quello aminico, secondo i metodi generali stabiliti dalla

TABELLA III

Formaggi	Umidità	Grasso	NaCl	Ceneri	N totale	Sost. proteiche Nx 6,37	N solubile	N aminico	Coeff. di maturazione
Quartirollo di monte (6 giorni) . . .	49,6	25	1,64	3,16	3,13	19,9	1,44	0,03	0,46
Quartirollo di monte (maturo) . . .	45,2	27	2,92	5,30	3,38	21,5	2,36	0,45	0,99
Gorgonzola . . .	40,19	—	2,26	3,60	3,33	Nx6,25 20,81	1,95	0,22	0,56
Camembert . . .	42,25	30,3	—	4,70	—	19,00	—	—	—
Camembert . . .	49,31	22,5	—	4,70	—	20,10	—	—	—
Neufchatel . . .	37,90	41,3	—	3,40	—	23,60	—	—	—
Brie . . . . .	50,04	27,5	—	4,12	—	27,50	—	—	—
Roquefort . . .	38,84	35,18	—	5,98	3,20	20,00	—	—	—

Commissione per lo studio dei problemi dell'alimentazione. Nella tabella N. 3 sono riportati anche i dati analitici riguardanti i più importanti formaggi molli stagionati, sia italiani che stranieri, allo scopo di consentire eventuali raffronti.

Per la determinazione dell'umidità abbiamo usato il solito metodo di essiccazione in stufa Gay-Lussac. Per il grasso, il metodo volumetrico di Gerber; per gli azoti totale e solubile, il metodo Kjeldhal. Abbiamo determinato le sostanze proteiche, sulla base dell'azoto totale calcolato come caseina, moltiplicato per il fattore 6,37.

L'azoto aminico è stato determinato con l'apparecchio van Slyke.

Le ceneri sono state calcolate per differenza sulla base del peso del formaggio incenerito.

Il coefficiente di maturazione è dato dal rapporto:  $\frac{\text{N solubile}}{\text{N totale}}$ .

### PRINCIPALI SPECIE MICROBICHE RISCOINTRATE

L'esame dei principali raggruppamenti microbici che successivamente compaiono durante le varie fasi di maturazione, ha messo in evidenza (come già si è detto), una prima fase di acidificazione seguita da una sempre più pronunciata azione proteolitica, dovuta in gran parte a microrganismi acido-

proteolitici e soprattutto ad ifomiceti. Questi ultimi conferiscono una caratteristica tipica al formaggio, sia organolettica che nei riguardi dell'aspetto esteriore.

È sembrato opportuno esaminare un po' dettagliatamente alcuni stipiti appartenenti ai vari raggruppamenti microbici ritrovati, scegliendoli fra i moltissimi isolamenti compiuti (oltre un centinaio) dopo un primo confronto delle loro caratteristiche morfologiche e fondamentali proprietà culturali, in guisa da considerare solamente quelli presentanti caratteri ben differenziati.

Per brevità non si riportano i dati sperimentali che si riferiscono ai consueti rilievi morfologici, culturali e biochimici eseguiti su ciascun stipite al fine di stabilirne la diagnosi. Diremo soltanto che gli acidificanti riscontrati, appartengono nella grande maggioranza dei casi, alle *Coccacee*. Le specie identificate sono le seguenti: *Streptococcus lacticus* Kruse, *Micrococcus lactis acidi* Marpmann.

Fra le *Bacillaceae* abbiamo trovato un'unica forma ben definita, riferibile (nonostante qualche piccola differenza nei caratteri culturali) alla specie *B. Bulgaricum* Lürssen e Kühn.

Il gruppo degli acido-proteolitici è rappresentato dalle specie *Mammococcus* II Gorini (17) sin. (*Micrococcus acidi lactis liquefaciens* Krüger) e *Micrococcus casei acido-proteolyticus* I Gorini (18) (*M. caseolyticus* Evans).

Alcuni stipiti di attivi proteolitici, possono essere riferiti con sicurezza alla specie *B. mesentericus vulgatus* Flügge.

Data la speciale importanza che gli ifomiceti hanno nel processo di maturazione del quartiolo di monte, importanza che, come si è già detto, è stata rilevata anche dai pratici che si interessano di questo formaggio, abbiamo creduto opportuno soffermarci piuttosto a lungo nel loro studio. Gli schizomiceti ed i lieviti trovati nel quartiolo di monte non differiscono infatti, sia per le specie presenti che per la loro distribuzione durante il periodo di maturazione, da quelli dei più comuni formaggi molli. La tipicità del quartiolo di monte deve essere quindi attribuita essenzialmente all'azione degli ifomiceti.

## FLORA IFOMICETICA

Lo studio delle muffe che compaiono sul quartiolo di monte, si è svolto su diversi stipiti prelevati con le consuete norme batteriologiche da molti campioni a diverso stadio di maturazione. Tutti gli isolamenti compiuti, salvo due che diedero culture pure di *Penicillium candidum* Roger, hanno dato luogo a culture pure di una muffa sviluppantesi in un primo tempo con la formazione di ciuffetti di color bianco, con diramazione a raggiera che danno luogo, dopo quattro-cinque giorni, ad un sottile feltro di densità: uniforme che assume (cominciando dal centro), un color giallo rosato e diviene rosso mattone cupo dopo altri quattro-cinque giorni.

#### *ASPETTO MICROSCOPICO*

Esistono piccole differenze tra la muffa prelevata dal formaggio e quella coltivata sui terreni di laboratorio.

Il prelievo dal formaggio, mette in evidenza un micelio di dimensioni piuttosto variabili; irregolare (in un punto più largo ed in un altro più stretto), qualche volta sub-dicotomo, settato qua e là, raramente e leggermente colorato in giallo chiaro.

I conidi stanno attaccati in catenelle agli apici dei rami miceliari, che nel tratto che precede la catenella presentano spesso degli ingrossamenti a forma più o meno regolare, senza separazione di setti, quasi ne fossero abbozzi non ancora o non ben sviluppati. La maggior parte dei conidi maturi ha forma rotonda; taluno reca una piccola appendice rettangolare che rappresenta probabilmente un residuo del micelio dal quale proviene. Essi presentano un contenuto protoplasmatico di color giallo, più accentuato al centro, con granulazione intensamente colorata. I conidi non maturi hanno forma più allungata. Le catenelle conidiche sono qualche volta dicotome. Nel punto dove si staccano i due rami si ha spesso un conidio di forma diversa dagli altri, grossolanamente triangolare.

L'esame microscopico eseguito su culture provenienti da agar latte dopo 6, 11 e 30 giorni ha mostrato le solite ife di dimensioni più o meno irregolari, con diramazioni laterali, qualche volta sub-dicotome e poco settate. Le catene dei conidi sono invece leggermente diverse: i conidi hanno forma molto più irregolare, prevalentemente rotondeggiante, alcuni grossi, altri più piccoli, molti allungati; spesso nei primi stadi della moltiplicazione hanno forma rettangolare.

Su patata il micelio è distintamente più colorato in giallo chiaro nel suo contenuto interno; codesta tinta aumenta d'intensità man mano che le ife invecchiano. Si notano inoltre qua e là, piccole porzioni a contenuto più intensamente colorato. Si può dire, in linea generale che, coltivata su terreni solidi, la muffa assume molto rapidamente il suo caratteristico colore rosso-mattone e dà abbondante sporificazione; coltivata in terreni liquidi, assume invece quasi sempre un colore chiaro ialino, e presenta pochissimi conidi.

#### *MISURAZIONI*

È stato misurato il diametro dei conidi maturi e del micelio, sia della muffa naturale da formaggio, che di culture di 15- 30 e più giorni, in agar latte, patata, agar malto, brodo malto e brodo comune.

Il diametro del micelio si è rivelato eguale nei vari substrati; in media è di 3,84  $\mu$ . Il diametro medio dei conidi varia invece di alcuni  $\mu$  più piccoli sono quelli su agar latte, agar malto, brodo malto e brodo comune, in media  $\mu$  10 con un minimo di  $\mu$  7,68 ad un massimo di  $\mu$  15,56; più grandi quelli da culture naturali da formaggio e su patata: in media  $\mu$  12,49, con un minimo di  $\mu$  10,24 ed un massimo di  $\mu$  16,36.

#### COLORABILITÀ

La colorazione con Sudan III che mette in evidenza i grassi, ha dato un risultato nettamente positivo. La colorazione del protoplasma con il blu di Poirrier 0,5 % ed al lattofenolo di Amann, ha dato netta colorazione del contenuto dei conidi ed anche, leggermente, della membrana. Si è potuto osservare così che i conidi giovani hanno membrana sottile, che si ispessisce man mano che se ne ha l'invecchiamento.

#### GERMINAZIONE DELLE SPORE

I conidi germinano in latte digerito Arnaudi, a temperatura ambiente di circa 20°-25° C. entro 48 ore. La parete del conidio si rompe in un punto qualsiasi e da qui inizia la germinazione di un sottile filamento ialino di calibro piuttosto piccolo ed uniforme, che si mantiene non settato finchè non ha raggiunto una certa lunghezza. Il conidio può germinare anche in due punti. Molto spesso il tubetto germinativo è cortissimo (lungo presso a poco come la spora) e si divide subito in due rami secondari.

Dopo altre 24 ore le estremità dei tubetti germinativi, che si sono un po' allungate, si sono anche ingrossate e presentano qualche setto. Cominciano ad aversi allora i primi conidi di forma un po' ovoidale e le prime rudimentali ramificazioni secondarie.

#### CLASSIFICAZIONE

Basandoci sull'osservazione microscopica possiamo così riassumere i caratteri salienti della muffa:

Cespuglietti piatti d'aspetto vellutato, confluenti; di forma rotondeggiante, in principio di color bianco, poi di color rosso mattone cupo e che invecchiando assumono l'aspetto di croste; ife leggermente colorate nel loro interno in giallo chiaro e di diametro un po' irregolare con qua e là rami secondari e diramazioni quasi sub-dicotome, alcune delle quali sterili, altre portanti numerosi conidi in catenelle; diametro medio delle ife 3,84  $\mu$ ; giovani conidi di forma rotondeggiante piuttosto allungata, spesso quasi rettangolare a spigoli arrotondati; conidi maturi, colorati internamente in rosa-giallo con: diametro medio di  $\mu$  12,49 (da formaggio) e di  $\mu$  10 (in terreni culturali artificiali); conidi che a maturità si staccano dalle catenelle.

Queste caratteristiche corrispondono a quelle dell'*Oospora crustacea* (Bull.) Sacc.

Ne riportiamo la descrizione della *Sylloge Fungorum* di P. A. Saccardo (vol. IV, 1886, pag. 20).

« *Caespitulis orbicularibus, sparsis, velutiniis, confluentibus, amoene mi-  
« niatis, senectute crustaeformibus; hiphis sterilibus repentibus ramosque fer-  
« tiles furcatis producentibus, 120-150=10; conidiis cuboideis v. cuboideo-glo-  
« bosis, 6-8  $\mu$  diam., miniato-rubris longe catenulatis denique secedentibus.  
« Hab. in caseo vetusto, in canceribus, piscibus, inque tela adhaerente putre-  
« scentibus, in colla putri in Italia, Gallia, Britannia et Germania »;*

All'infuori della leggera differenza del diametro dei conidi c'è concordanza nelle due descrizioni. Quindi la muffa da noi studiata viene senz'altro classificata come *Oospom crustacea* (Bull.) Sacc. (\*).

Questo fungo è già stato segnalato in Lombardia fin dal 1879 da Pirotta e Riboni che ne diedero una descrizione piuttosto sommaria e lo identificarono con *Oidium rubens* Link, raccogliendone poi la più vecchia e nuova sinonimia che è pure riportata in gran parte dal Saccardo. Uno studio più dettagliato è stato eseguito dal Beauverie, sotto la denominazione *Oospora crustacea* Saccardo e come sinonimi *Aegerita crustacea* De Candolle 1805, *Mucor crustaceus* Bull. 1791, *Oidium Rubens* Link 1809, *Torula casei* Corda 1838. Questo A. dà un'accurata descrizione morfologica e culturale della muffa e dice di averne trovato anche i periteci (*Choetonium Oospora*). I caratteri dei nostri stipiti non concordano completamente con quelli dati dal Beauverie, specialmente nei riguardi della colorazione rossa che questo Autore dice legata alla presenza di batteri o lieviti che si svilupperebbero contemporaneamente sul formaggio, mentre — come abbiamo più volte detto — la muffa presenta la tipica colorazione rosso-mattone, che si accentua con l'età anche nelle culture sicuramente pure.

Inoltre, dal nostro fungo non abbiamo mai ottenuto, come già Pirotta e Riboni, una forma ascofora, nemmeno coltivandolo sopra i substrati indicati dall'autore francese. Nell'incertezza abbiamo voluto eseguire un confronto diretto con una cultura inviataci dal Centralbureau voor Schimmelcultures di Baarn, con la denominazione di *Oospora crustacea*, coltivando tanto i nostri stipiti, quanto quello di Baarn, sui terreni culturali usati dal Beauverie (patata, carota, pane, brodo di prugne ecc.) oltre ai comuni terreni culturali.

Complessivamente le due muffe non sono identiche, ma quasi. Macroscopicamente le uniche differenze riscontrate sono queste: su agar comune e malto inclinati, l'*Oospora* di Baarn, pur avendo lo stesso portamento, cresce più stentatamente della nostra muffa ed assume, non il color rosso mattone caratteristico, ma un colore rosa mattone molto più chiaro. Si è passati poi alla osservazione al microscopio dell'una e dell'altra muffa su tutti i terreni culturali e si è misurato il diametro del micelio e dei conidi.

Nei terreni dove esiste una differenza macroscopica, microscopicamente non se ne ha alcuna; soltanto in due terreni (la patata ed i pezzi di pane umido) sui quali le due muffe appaiono assolutamente eguali, abbiamo notato una certa disuguaglianza. Infatti, su patata l'*Oospora* di Baarn presenta conidi della solita forma, ma molto più piccoli: hanno in media il diam. Di 5,6  $\mu$ . contro il diametro di  $\mu$ . 12,5 rivelato dalla nostra muffa su patata. Su pane, l'*Oospora* di Baarn ha i conidi di forma tendente alla quadrata con un diametro medio di 5,3  $\mu$ , contro un diam. di 12,5 della nostra. Il diametro

---

(\*) Al ch.mo Prof. L. Montemartini che ci ha dato suggerimenti intorno alla bibliografia di questa muffa, porgiamo i nostri vivi ringraziamenti.

delle ife, invece, corrisponde. Queste sono le sole differenze, poiché in tutti gli altri terreni culturali, si osservano microscopicamente le stesse forme e le stesse dimensioni. Causa delle dimensioni ridotte dei conidi dell'*Oospora* di Baarn potrebbe essere una maggiore attitudine alla sporificazione, con conseguente diminuzione del diametro per la maggior parte dei conidi stessi. Infatti, su pane, le catene dei conidi sono molto più lunghe di tutte quelle osservate per la nostra muffa.

## OSSERVAZIONI CULTURALI E BIOCHIMICHE

In vista della importanza che ha l'*Oospora crustacea* nella maturazione del *Quartirolo di monte* abbiamo ritenuto interessante precisare maggiormente il comportamento culturale e biochimico del micete; soprattutto rispetto a quei fattori ambientali che possono essere messi in relazione con il processo di maturazione.

### COMPORAMENTO RISPETTO ALLA TEMPERATURA

Si è saggiata la facoltà di sviluppo della muffa a diverse temperature. Essa è stata seminata in provette di latte ed agar-latte e tenuta alle seguenti temperature:  $-9 \div 0$ ;  $0 \div +5$ ;  $15 \div 17$ ;  $22 \div 24$ ;  $30$  e  $37^\circ$  C. Dopo 3 giorni si sono cominciati a vedere piccolissimi ciuffetti di muffa bianca, alle temperature di  $15 \div 17$  e  $22 \div 24^\circ$  C.; sempre alla stessa temperatura, dopo 6 giorni, ottimo sviluppo del sottile feltro rosso. Alle altre temperature nessun cenno di sviluppo anche dopo parecchio tempo (16 giorni).

### CARATTERI CULTURALI

Dopo 10 giorni a  $25^\circ$  C. sono stati rilevati i seguenti caratteri culturali:

*Agar malto inclinato*: feltro bene sviluppato, più rilevato nella parte centrale, uniforme in superficie, di color rosso mattone chiaro.

*Agar latte inclinato*: feltro ottimamente sviluppato, uniforme in superficie, di color rosso mattone chiaro.

*Patata (tassello)*: feltro ottimamente sviluppato ed esteso, non uniforme, ma piuttosto irregolarmente increspato in superficie, di color rosso mattone cupo.

*Carota (tassello)*: feltro ottimamente sviluppato ed espanso, non uniforme e liscio in superficie ma con la parte centrale tutta ricoperta di tante piccole escrescenze alte circa 1-1,5 mm. e formate da piccoli fasci di ife, più o meno parallele. Il colore è ovunque, il solito rosso mattone intenso.

*Pane (pezzetti umidi)*: discreto sviluppo di un feltro liscio uniforme di color rosa mattone, che ricorda in tutto il corrispondente su agar latte.

*Soluzione all'1% di peptone*: la muffa nata in sommersione dà ciuffetti ben espansi, con ife disposte regolarmente a formare quasi una mezza sfera, di color bianco ialino, che tende leggermente ad ingiallire nella parte cen-

trale di sviluppo. In superficie, la muffa presenta un piccolo feltro di color rosa mattone.

*Soluzione all'1 % di glucosio:* la muffa si presenta allo stesso modo come nel liquido all'1 % di peptone.

*Soluzione all'1 % di peptone + 1,8 % di Na Cl:* si presenta in tutto come nel liquido all'1 % di peptone.

*Brodo di prugna al 10 %:* in sommersione, piccoli ciuffetti densi, formati da grovigli irregolari di ife; di colore leggermente tendente al marrone chiaro.

*Brodo gruiera al 10 %:* in superficie un feltro abbondante alto circa 1-1,5 cm. del solito colore rosso mattone. La parte inferiore del feltro, cresciuta in sommersione, essa pure bene sviluppata, ha colore più chiaro.

#### ATTIVITÀ BIOCHIMICHE

Provette di brodo peptonato, idrati di carbonio 2 % e tornasole vengono seminate con l'*Oospora crustacea*. Gli idrati di carbonio saggiati sono: glucosio, levulosio, lattosio, maltosio, galattosio, saccarosio, raffiniosio, arabinosio, glicerina ed amido. Dopo 2 giorni a  $18 \div 21^\circ \text{C}$ . la muffa di color biancastro si comincia a sviluppare in tutti i liquidi, sul fondo delle provette. Si nota una evidente acidificazione soltanto col levulosio ed il lattosio.

Dopo altri 4 giorni, la muffa si è sviluppata ottimamente in tutti gli zuccheri. Buona acidificazione del levulosio e del lattosio. Lievissima quella degli altri.

#### REAZIONE DEL MEZZO

1°) Determinazione della variazione della concentrazione idrogenionica su latte. La muffa è stata seminata in latte tenuto a  $18-21^\circ \text{C}$ . Si sono prelevate sterilmente di tempo in tempo, piccole quantità di latte determinando in queste, le modificazioni del Ph.

Dopo 3 giorni dalla semina, la muffa ha cominciato a svilupparsi, dando luogo ad un sottilissimo feltro biancastro sulla superficie del latte. Dopo altri 2 giorni, il feltro si è fatto più spesso, assumendo una tinta rosso-giallastra. Il latte formava un coagulo molto molle che in alto, immediatamente al di sotto del feltro di muffa, cominciava ad essere digerito per circa 0,5 cm. di spessore, eliminando un liquido di colore giallo piuttosto tendente al bruno. La digestione è proceduta lentamente, dall'alto verso il basso, facendo scomparire il coagulo in circa 18-21 giorni. Il pH del latte è rimasto inalterato fino alla formazione del coagulo, con susseguente digestione (vedi tabella N. 4).

2°) Prova iniziale in mezzo alcalino ed in mezzo acido (a  $18-21^\circ \text{C}$ .). Sono state allestite provette di latte digerito Arnaudi (il cui pH è di solito di 6,6-6,8), con aggiunta di diverse quantità di idrato sodico e di acido lattico, in modo da ottenere dei pH intermedi tra 4,4 e 7,8.



TABELLA IV

Dopo 3 giorni	Dopo 5 giorni	Dopo 10 giorni	Dopo 20 giorni	Dopo 107 giorni
pH 6,65	6,90	7,20	7,85	8,9-9

Il latte di partenza e di controllo aveva un pH di 6,65.

La prova è stata eseguita con 4 provette per ciascun pH.

I risultati sono raccolti nella tabella N. 5.

Raffrontando i dati della acidità più bassa alla quale la muffa può vivere e che è praticamente di 5,4 (perchè a pH inferiore essa vegeta troppo stenta-

TABELLA V

pH di partenza	Sviluppo dopo 4 giorni	Sviluppo dopo 8 giorni	Sviluppo dopo 25 giorni	pH dopo 25 giorni
4,4	—	—	—	4,3
4,55	—	—	—	4,6
4,7	—	—	velo rosa-giallo quasi invisibile in superficie	4,7
5,05	—	—	idem	5,1
5,2	—	piccolissimo ciuffo di muffa sul fondo della provetta	sottilissimo velo in superficie e lieve deposito sul fondo	5,4
5,4	piccolissimo ciuffo di muffa sul fondo della provetta	piccolo feltro rosso in superficie e deposito limitato sul fondo	discreto sviluppo in superficie e deposito limitato sul fondo	6,6
5,7	idem	discreto feltro rosso in superficie	in superficie e sul fondo, rigoglioso sviluppo del feltro rosso	8,1
5,8	idem	idem	idem	8,3
6,1	idem	idem	idem	8,3
6,4	discreto ciuffo di muffa sul fondo della provetta	spesso feltro in superficie e rigoglioso deposito sul fondo	idem	8,3
6,6	idem	idem	idem	8,4
6,9	idem	idem	idem	8,4
7,2	idem	idem	idem	8,6
7,5	idem	idem	idem	8,6
7,8	idem	idem	idem	9,0

tamente), con quelli dell'acidità del formaggio nei vari stadi di maturazione (che sono i seguenti: a 6 giorni pH 5,5; a 15 giorni pH 5,8; formaggio maturo pH 6,3), si rileva una netta corrispondenza; vale a dire che dopo 6 giorni, la muffa trova un grado di acidità che ne permette lo sviluppo. Ciò è confermato anche dal fatto che è appunto dopo 6-15 giorni, che la forma si ricopre della caratteristica muffa.

*RESISTENZA DELLA MUFFA ALLA PRESENZA DI DIVERSE PERCENTUALI DI Na Cl.*

(Latte+ NaCl nella misura del 0,1 - 0,5 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10 - 11 - 12 - 13 - 14 - 15 %). Temperatura: 18-21° C. in doppia prova.

Nei primi 12 giorni, non si nota alcuna differenza fra i controlli e le prove con sale fino al 12 %: si ha cioè un sottile feltro di muffa che ricopre tutta la superficie libera del liquido e, immediatamente al di sotto, la digestione per circa 1 cm del latte che ha formato un coagulo mollissimo. L'unica differenza sta nel fatto che la zona di digestione sembra più rilevante che nei controlli, in quanto raggiunge lo spessore di circa 1 cm nelle prove al 3-4 e 5 % di sale. Nelle prove al 13-14 e 15 % si osserva soltanto un sottilissimo velo in superficie, che si fa sempre più sottile quanto più aumenta la percentuale di sale, mentre il latte non è coagulato.

Dopo 22 giorni nelle prove con sale, fino al 5 % compreso, si ha lo stesso aspetto che nei controlli: colore rosso e spessore discreto del feltro (circa 1 cm); nella porzione immediatamente al di sotto, digestione del latte coagulato per circa 3 cm. Nelle prove con il 6-12% di sale, si ha un feltro meno spesso ed una digestione del coagulo che raggiunge soltanto cm 1,5. Il 13-15% di sale dà luogo a feltro sottile e stentato, di color bianco giallastro; il latte è coagulato ma non si ha alcun accenno di digestione. Dopo 94 giorni, non si nota alcuna differenza fra controlli e prove fino all'8 %; si ha cioè un feltro molto spesso (circa 2 cm) di color rosso cupo; il latte è quasi completamente digerito salvo 0,5 cm di coagulo spappolato sul fondo. Le prove al 9 e 10% danno un feltro dello spessore di 1,5 cm circa (cioè leggermente meno spesso del controllo) di colore rosso cupo. Il coagulo è digerito, salvo un deposito al fondo, di circa 1 cm. Con l'11 % di sale il feltro si presenta ancora di colore rosso cupo ma dello spessore di 1 cm circa; il coagulo è digerito, eccettuato un deposito di circa 2 cm; il liquido di digestione ha un colore leggermente più chiaro dei precedenti. Il 12 % di sale dà un comportamento eguale in tutto alla prova precedente, salvo il colore del liquido di digestione che è ancora più chiaro. Col 13 e 14 % di sale si ottiene un feltro di color bianco giallastro; il coagulo, mollissimo, è digerito soltanto nella parte superiore, per circa 2 cm. Il 15 % di sale dà feltro sottile, bianco con bordi giallastri e coagulo mollissimo, digerito in alto per circa 1 cm soltanto.

Riassumendo si può dire che la muffa resiste fino al 15 % di sale, sviluppandosi sempre più lentamente, man mano che ne aumenta la percentuale.

La digestione, che in un primo tempo procede come velocità e quantità

alla stessa maniera nei controlli e nelle prove fino al 5 % compreso, prosegue sempre più rallentata fino al 15 % di sale; in un secondo tempo, cioè dopo 3 mesi, è uguale nei controlli e nelle prove contenenti fino all'8 % di sale; dal 9 al 15 % si ha una diminuzione sensibile e graduale.

*RICERCHE SULLA PROTEOLISI DEL LATTE, IN PRESENZA DI SALE*

È stata eseguita la ricerca degli aminoacidi col metodo del formolo secondo Schiff e Sorensen su alcune delle culture precedentemente descritte di 94 giorni. Il metodo usato è stato il seguente: prelevati 10 cc di liquido e filtrato per carta, venivano neutralizzati perfettamente con  $H_2SO_4$  0,1 N in presenza di fenoltaleina; si aggiungevano 20 cc di formolo neutralizzato (1 parte di formaldeide + 2 parti di acqua), si agitava e si lasciava in riposo qualche tempo. Si aveva allora una acidificazione per la soppressione delle funzioni basiche degli aminoacidi, poichè restavano liberi soltanto i gruppi carbossilici di questi. Si ripristinava ancora l'alcalinità, titolando con Na OH 0,1 N. Il numero di cc. di Na OH 0,1 N necessari alla neutralizzazione costituisce l'espressione dei gruppi  $NH_2$ . La proteolisi viene quindi espressa in cc. di Na OH 0,1 N. Per ogni percentuale sono state eseguite cinque prove: i dati sotto riportati ne rappresentano la media:

TABELLA VI

% di Na Cl	cc di Na OH 0,1 n
0,1	21,2
1	22,4
2	19,5
3	19,1
5	17,5
7	16,6
9	14,2
11	14,0
12	13,4
13	12,0
15	10,5
controllo	19,2

Da questi dati parrebbe risultare che le piccole quantità (0,1 e 1 %) di sale, danno quasi un incremento della proteolisi, mentre le superiori, (oltre il 3 %), determinano invece una depressione.

#### PIGMENTO

Il pigmento lo si estrae dal feltro cresciuto su patata e su agar-latte. L'estrazione riesce con acqua, alcool etilico, alcool amilico, cloroformio, etere, acetone, xilolo, benzolo. Il pigmento non è solubile in etere di petrolio. In alcool etilico, alcool amilico, acqua e acetone la soluzione ha color aranciato, intenso nei primi due solventi, meno intenso nei due ultimi. In cloroformio e in etere il colore è meno carico e giallo citrino. In xilolo e benzolo la solubilità è minore e la colorazione giallo chiaro. La soluzione acquosa trattata con piccole quantità di carbonato sodico e di acido acetico non cambia l'intensità del colore, che è stabilissimo. Dalla soluzione acquosa filtrata e posta in capsula a bagnomaria, è stato ottenuto il residuo secco nel quale il pigmento permane, poichè si ridiscioglie nei medesimi reagenti, come la prima volta.

#### CONCLUSIONI

Dal complesso delle osservazioni compiute si può concludere che la maturazione del *Quartiolo di monte* nella fase iniziale è determinata essenzialmente da un processo di acidificazione dovuto, in massima parte, a streptococchi lattici; in un secondo tempo si inizia l'idrolisi della caseina ad opera di microbi acido-proteolitici del Gorini e dei comuni proteolitici. Questo processo digestivo viene quindi proseguito dall'*Oospora crustacea* (Bull.) Sacc. che, largamente diffusa sulla superficie del formaggio, penetra anche nell'interno delle forme determinando una progressiva digestione dall'esterno verso l'interno. Questo andamento di maturazione conferisce al *Quartiolo di monte* netti caratteri di tipicità nei riguardi del sapore, nonchè un aspetto caratteristico dovuto a chiazze rossastre d'aspetto crostoso che l'*Oospora crustacea* determina alla superficie delle forme.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Verf. studiert mit bakteriologischen, mikroskopischen und chemischen Prüfungen den Reifungsprozess des Käses *Quartiolo di monte*. Er erbringt den Nachweis der Mikrobenarten (Milchstreptokokken, Säure-proteolytische- und proteolytische Bakterien) die in den aufeinanderfolgenden Phasen der Reifung den Vordergrund behaupten, und schreibt die besondere Charakteristik dieser Käseart der *Oospora crustacea* (Bull.) Sacc. zu, deren kulturelle Merkmale, Resistenz gegen NaCl und proteolytische Wirkung eingehend erforscht werden.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) *Musso G. e Menozzi A.* - Ricerche sulla composizione degli stracchini. « Ann. della Staz. Sperim. di Caseif. Lodi », 1877-89, pag. 195.
- (2) *Maggiore-Vergano A.* - Sulla composizione dei caci stravecchi. « Riv. d'Igiene e Sanità Pubblica », 1891, pag. 669.

(3) *Samarani F.* - Culture selezionate del *Penicillium glaucum* per la produzione del verde del Gorgonzola. « Ann. della Staz. Sperim. di Caseif. Lodi », 1909.

(4) *Arnaudi C.* - Sui Penicilli del Gorgonzola. « Boll. dell'Ist. Sieroterapico Milanese », febbraio 1927.

(5) *Arnaudi C.* - Ueber die Penicillien des Gorgonzolakäses. « Centr. Bakt. II Abt. », Band 73, 1928.

(6) *De Tamasi* - Untersuchungen über die Mikroflora des Gorgonzolakases « Centralb. Bakt. II Abt. » Band. 74, pag. 184.

(7) *Bondioli M.* - Contributo allo studio della maturazione dei formaggi erborinati italiani con speciale riguardo al Gorgonzola. « Ann. Ist. Sper. Caseif. Lodi », vol. VI, n. 8-9.

(8) *E. Caseria e I. Erba.* - Ricerche sulla costituzione chimico-biologica del Gorgonzola in rapporto alla qualità. « Quaderni della Nutrizione », 1936, pag. 472.

(9) *Carini C.* - Ricerche batteriologiche sul formaggio Gorgonzola. « Rend. Reale Accademia dei Lincei », 1906, 15, 298.

(10) *Carini C.* - Ricerche sopra una grave malattia del formaggio Gorgonzola. « R. Acc. Lincei », 1908, 17, 568.

(11) *Carini C.* - Considerazioni igienico-batteriologiche sulla foracchiatura dello stracchino Gorgonzola. « Agricoltura Moderna », 1908.

(12) *Gorini C.* - Affinità di origine e prevenzione di alcune malattie del formaggio Gorgonzola e dei prosciutti. « R. Ist. Lombardo Sc. e Lett. », 1911, 44, 1.

(13) *Pascetti G.* - Sul formaggio di Castelmagno. « Ann. Ist. Sperim. di Caseif. Lodi », ottobre 1927.

(14) *Sacchetti M.* - Contributo alla conoscenza della flora microbica di alcuni formaggi italiani. I. « Arch. f. Mikrob. 3, 650 », 1932, settembre.

(15) *Sacchetti M.* - Contributo alla conoscenza della flora microbica di alcuni formaggi italiani. II. « Arch. f. Mikrob. 4, 427 », 1933.

(16) *Carini C.* - Sulla distribuzione dei batteri nel formaggio grana. « Rend. R. Ist. Lomb. Sc. e Lett. », serie II, vol. XXXVII, fasc. II, 1904.

(17) *Corberi E.* - Ricerche sopra i cocchi acidoproteolitici del Gorini. « Archiv für Mikrobiologie », IX, 95, 1938; « Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett. », 71, 265, 1938.

(18) *Carini C.* - Ricerche sui cocchi acido-presamigeni del formaggio (*Mic. casei acidoproteolyticus I e II*). « Rend. R. Acc. Lincei », 19, 150, 1910.

(19) *Pirotta R. e Riboni G.* - Studi sul latte. « Arch. Bot. Critt. », Pavia, vol. II e III, pag. 306, 1879.

(20) *Saccardo P. A.* - « Sylloge Fungorum », vol. IV, pag. 20, Patavii, 1886.

(21) *Beauverie J.* - Études sur le polymorphisme des champignons. « Ann. Univer. de Lyon », fasc. 3, pag. 201, 1900.

---

