

## **Ricerche sui fermenti lattici (nota II)**

**Dott. I. Politi** (Vice-direttore)

*(Ricevuto il 10 Dicembre 1940-XIX)*

### OSSERVAZIONI SULLO SVILUPPO IN LATTE DI ALCUNI FERMENTI LATTICI

Le ricerche di cui segue l'esposizione fanno parte di una serie di indagini sistematiche, intraprese da questa Stazione sul complesso problema delle molteplici influenze che diverse condizioni, e specialmente il tipo di alimentazione degli animali, esplicano sul contenuto microbico e sulle attitudini casearie del latte. Esse recano un preliminare contributo alla conoscenza di alcune caratteristiche fisiologiche dei fermenti lattici in rapporto alla normale costituzione del latte ed alle variazioni che si possono verificare nelle attitudini fermentative di questo.

È noto quanto siano diverse la rapidità e l'intensità di sviluppo dei vari fermenti lattici nel latte e, parallelamente, la rapidità e l'intensità dell'acidificazione da essi determinata. Infatti, mentre alcuni di questi microrganismi trovano nel latte condizioni di sviluppo particolarmente favorevoli, acidificando con grande rapidità e coagulando la caseina in meno di 24 ore, altri fermenti lattici crescono assai più lentamente, coagulando solo dopo due-tre giorni ed altri ancora non sono suscettibili che di assai scarsa crescita, lasciando il latte immutato o determinandovi solo una leggera acidificazione. Alcuni di questi ultimi microrganismi sono in realtà incapaci di fermentare il lattosio, ma non mancano fermenti lattici che, pur dotati di questa proprietà, crescono più o meno stentatamente nel latte. Del resto le ricerche compiute recentemente sui fermenti lattici dei foraggi insilati (1) hanno consentito di accertare che la stentata crescita in latte è una caratteristica molto generale di codesti microrganismi, indipendentemente dalla loro posizione sistematica.

Ma anche estendendo l'osservazione ai fermenti lattici di altri substrati naturali si rileva facilmente che le caratteristiche dello sviluppo in latte sono spiccatamente variabili. Le cause di codeste differenze di comportamento si ricollegano quindi a proprietà fisiologiche indipendenti dalla capacità di fermentare il lattosio e non ancora sufficientemente precisate.

Recenti ricerche hanno posto in luce le speciali esigenze che i fermenti lattici presentano sia nei riguardi della loro nutrizione azotata (2) sia anche nei riguardi di particolari fattori di accrescimento e stimolanti (3). Riesce agevolmente quindi considerare sotto questi aspetti le caratteristiche di sviluppo dei vari fermenti lattici e attribuirne le differenze di comportamento in latte alle loro eventuali diverse esigenze di nutrimento azotato o di fattori di accrescimento. È pure necessario osservare in proposito che il latte costituisce un substrato ricco di azoto organico, ma per la quasi totalità sotto forma di sostanze proteiche complesse e colloidali, la cui assimilazione

non può aver luogo se non in seguito ad un processo d'idrolisi. Ne deriva che importanti differenze di comportamento possono essere dovute ad una diversa capacità di idrolizzare le proteine del latte.

È agevole ora comprendere che più complete e sicure conoscenze intorno alle attitudini fisiologiche dei vari fermenti lattici consentirebbero anche una più precisa conoscenza delle caratteristiche del latte, considerato come substrato della fermentazione acida cui soggiace spontaneamente ed in particolar modo nei diversi processi di trasformazione casearia.

E perciò, in vista di più ampie ricerche sul complesso argomento, si è ritenuto utile compiere alcune indagini preliminari e di esse si espongono in questa nota i risultati.

Per queste ricerche vennero impiegati i seguenti microrganismi:

<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	(da jogurt)
» <i>acidophilus</i>	
» <i>sili</i> (malto) <sup>(1)</sup>	(da foraggio insilato)
» » (latte) <sup>(1)</sup>	
Ceppo 13 B ( <i>Lact. plantarum</i> )	(da foraggio insilato)
<i>Streptococcus lacticus</i> – ceppo 1	(da latte)

Per ciascun ceppo venne controllato il comportamento in latte mediante la misura dell'acidificazione in questo prodotta. A tal fine si procedette nel seguente modo: del latte fresco ed intero venne distribuito in provette e sterilizzato con riscaldamento in autoclave a 110° per 20'; si inocularono quindi i singoli microrganismi, trapiantandoli con piccola ansa di platino da colture di 24 ore, e si mantenne in termostato a 37-38° per i primi cinque ceppi ed a 29-30° per gli altri due. Dopo 17, 24, 42 e 60 ore si fecero sterilmente dei piccoli prelievi e si determinò il pH con il metodo potenziometrico.

I risultati ottenuti <sup>(2)</sup>, riassunti nella Tab. I e riprodotti dal diagramma I, dimostrano le diversità di comportamento. Più che il grado di acidità misurato al termine dell'esperienza, il quale per alcuni ceppi corrisponde od è molto prossimo al più basso valore del pH tollerato dai microrganismi medesimi, è interessante porre a confronto le rapidità di acidificazione. In questo senso si rileva che il più attivo è stato il *Lact. bulgaricus*; un po' meno rapida è risultata l'acidificazione del *Lact. acidophilus*; molto più lenta quella del *Lact. sili*, lentissima quella del ceppo 13 B. Si osserva inoltre una netta diversità fra il *Lact. sili* (malto) e il *Lact. sili* (latte) e ciò dimostra che quest'ultimo ha subito un graduale e sensibile abituamento al substrato latte. Nei riguardi dello *Strept. lacticus* si rileva infine che l'acidificazione è stata dapprima discretamente rapida ma poi si è rallentata fortemente, cosicchè il valore del pH è sceso al di sotto di 5 soltanto dopo le 48 ore.

---

(1) Trattasi dello stesso ceppo, trapiantato periodicamente, da oltre un anno, rispettivamente in brodo malto ed in latte.

(2) Risultati affatto analoghi si sono ottenuti ripetendo le prove di acidificazione con diversi altri campioni di latte.

TAB. I — ACIDIFICAZIONE DEL LATTE

Ceppi	pH-dopo ore			
	17	24	42	60
Lact. bulgaricus	4.45	3.95	3.5	3.4
» acidophilus	4.55	4.05	3.75	3.55
» sili (malto)	6.3	6.15	5.45	4.65
» » (latte)	6.2	5.85	4.5	3.7
Ceppo 13 B (Lact. plantarum)	6.45	6.4	6.3	6.1
Strept. lacticus - ceppo I	5.7	5.45	5.1	4.8

Allo scopo di chiarire le cause delle spiccate differenze di comportamento emerse dai precedenti saggi, ossia nell'intento di accertare se le differenze stesse debbano attribuirsi a diverse esigenze di fattori d'accrescimento o piuttosto a differenti attitudini ad utilizzare le sostanze proteiche del latte, si è pensato di istituire delle prove colturali impiegando un terreno nutritivo il più possibile privo dei detti fattori ma completo come contenuto in sostanze minerali, idrati di carbonio e composti azotati di diretta assimilazione; in modo cioè da poter rilevare l'effetto utile derivante dall'aggiunta di piccole quantità di latte o di siero, in virtù dell'apporto dei fattori di accrescimento contenuti nel latte medesimo. Seguendo codesto criterio si è preparata la seguente soluzione:

Fosfato monopotassico gr. 1; solfato ammonico gr. 0.250; solfato di magnesio gr. 1; cloruro sodico gr. 1; lattosio gr. 20; idrolizzato di gr. 10 di caseina pura (i); acqua distillata sino a 1000 cc.; pH 6,2-6,4. Distribuito in provette (10 cc.) e sterilizzato a mezza atm. per 20'.

Per ciascun ceppo vennero allestite le seguenti prove di acidificazione:

- soluzione nutritiva senza alcuna aggiunta (controllo)
- » » più 1 cc. di siero (2) di latte
- » » » 0,1 cc. di siero di latte
- » » » 1 cc. di latte
- » » » 0,1 cc. di latte.

I risultati ottenuti sono raccolti nelle Tab. III e IV. Dalle prove di controllo emerge che le forme batteriche hanno prodotto un'acidificazione assai esigua; per lo Strept. lattico si è invece osservato uno sviluppo leggermente più intenso, accompagnato da una acidificazione sensibilmente più accentuata; ciò prova che quest'ultimo microrganismo ha minori esigenze di fattori di accrescimento, il che del resto è stato posto in chiara evidenza da Orla Jensen.

Considerando ora l'andamento dell'acidificazione nelle prove con aggiunta di siero (diagr. II), emergono i seguenti rilievi:

(1) G. 10 di caseina pura, addizionati a 100 cc. di  $H_2SO_4$  - 20% vennero riscaldati a b.m. bollente per 2 ore e mezza. Dopo neutralizzazione con barite, filtrazione e la-vaggio del precipitato, il liquido venne addizionato dei sali minerali e del lattosio e diluito con acqua dist. a 1000 cc.

(2) Preparato per precipitazione della caseina con  $H_2SO_4$ , filtrazione, neutralizzazione con NaOH e sterilizzazione in autoclave a mezza atm. per 20'.

Ad eccezione del *Lact. sili*, si osserva che l'acidificazione è stata più rapida ed intensa nelle prove con l'aggiunta di 1 cc. di siero che non in quelle con 0,1 cc.; ciò dimostra l'effetto utile dei fattori di accrescimento contenuti nel siero stesso.

L'acidificazione prodotta dal *Lact. bulgaricus* presenta le stesse caratteristiche di rapidità osservate per questo microrganismo nelle colture in latte.

L'acidificazione del *Lact. acidophilus* procedette dapprima con rapidità alquanto maggiore di quella del *Lact. sili* e del ceppo 13 B; ma poi si attenuò fortemente arrestandosi del tutto a valori del pH di molto superiori a quelli riscontrati al termine dell'esperienza per tutti gli altri ceppi. E poichè si è visto che questo fermento lattico acidifica il latte con rapidità ed intensità assai prossime a quella del *Lact. bulgaricus*, appare evidente che qui lo sviluppo fu rallentato ed arrestato da una vera e propria carenza di qualche sostanza indispensabile.

TAB. II

	+ Siero cc. 0.1			+ Siero cc. 1				
	pH dopo ore			pH dopo ore				
	20	44	66	114	20	44	66	114
<i>Lact. bulgaricus</i>	4,85	4,35	4,25	4,25	4,05	3,8	3,7	3,55
» <i>acidophilus</i>	5,7	5,65	5,6	5,55	5,5	5,15	5,12	5,1
» <i>sili</i> (malto)	6,1	5,75	4,95	3,8	6,1	5,95	5,25	3,85
Ceppo 13 B	5,95	4,75	4,25	4,15	5,75	4,25	3,8	3,55
<i>Strept. lacticus</i>	5,25	4,6	4,45	—	4,15	3,85	3,65	—

TAB. III

	Controllo (nessuna aggiunta) pH dopo ore	+ latte cc. 0.1			+ latte cc. 1				
		pH dopo ore			pH dopo ore				
		19	47	62	15	40	62	15	40
<i>Lact. bulgaricus</i>	6,2	6,15	6,1	5,45	4,2	3,95	4,2	3,5	3,-
» <i>acidophilus</i>	6,2	5,95	5,9	6,05	5,6	5,6	5,7	4,1	3,85
» <i>sili</i> (malto)	6,2	6,15	6,1	6,25	6,05	5,65	6,3	6,15	6,-
» <i>sili</i> (latte)	6,15	6,-	5,85	6,25	5,95	5,2	6,25	6,-	4,9
Ceppo 13 B	6,2	6,1	5,95	6,2	4,8	4,25	6,2	4,9	4,15
<i>Str. lacticus</i>	5,9	5,45	5,3	—	—	—	4,8	3,95	3,8

Il ceppo 13 B, pur acidificando con una rapidità inizialmente minore di quella dei due precedenti, ha abbassato il pH a valori poco discosti da quelli del *Lact. bulgaricus*. È evidente quindi che la lentezza e l'esiguità dell'acidificazione che il ceppo 13 B determina nelle colture in latte non sono imputabili a particolari esigenze di fattori d'accrescimento, ma principalmente ad una spiccata incapacità di utilizzare le sostanze proteiche del latte.

L'acidificazione prodotta dallo *Strept. lacticus* presenta caratteristiche di

rapidità che si accostano alquanto a quelle rilevate per il *Lact. Bulgaricus*. Ciò permette quindi di dedurre che la limitata acidificazione del latte, prodotta da questo streptococco, appare attribuibile ad una limitata capacità di idrolizzare i composti proteici del latte.

Il *Lact. sili* che, come si è visto, acidifica lentamente il latte, anche in queste prove è apparso incapace di più rapida azione; ciò fa supporre che codesta ridotta attività fermentativa, congiunta a lento sviluppo, sia indipendente dalla nutrizione azotata del germe stesso e perciò con molta probabilità imputabile a particolari esigenze di fattori di crescita o di stimolanti.

I risultati ottenuti dalle prove di acidificazione con aggiunta di latte, anziché di siero (diagr. III), confermano le precedenti osservazioni ed in più consentono di rilevare che il *Lact. acidophilus* ha prodotto un'acidificazione alquanto più intensa di quella riscontrata nei saggi precedenti. Questa diversità di comportamento appare determinata dalle sostanze proteiche apportate al substrato col latte aggiunto e dimostra così le speciali esigenze di questo ceppo in fatto di nutrizione azotata, esigenze nettamente superiori a quelle degli altri fermenti lattici esaminati parallelamente.

Nelle prove di acidificazione, di cui si è detto in precedenza, il latte ed il siero addizionati al terreno colturale vennero resi sterili mediante riscaldamento in autoclave per 20' a mezza atm. di sovrappressione. È evidente che con un siffatto trattamento termico alcuni costituenti del latte soggiacciono totalmente o in parte a distruzione, e perciò sorge il dubbio che i risultati delle precedenti esperienze non riflettano esattamente i comportamenti che i microrganismi esaminati avrebbero nel latte crudo. Si è quindi creduto interessante compiere delle prove comparative coltivando i detti microrganismi nel terreno alla caseina idrolizzata addizionato di siero sterilizzato col calore e di siero sterilizzato mediante filtrazione per candela. Non sono emerse rimarchevoli differenze e ciò consente di affermare che, almeno per i cinque ceppi esaminati, il latte non contiene fattori termolabili influenti sul loro sviluppo.

Si è visto che il *Lact. sili*, oltre ad essere scarsamente attivo nel latte, non ha trovato condizioni favorevoli per un rapido sviluppo nemmeno nelle prove di fermentazione di cui si è detto in precedenza e cioè in un substrato contenente azoto direttamente assimilabile e addizionato di siero o di latte quale fonte di fattori di accrescimento. Perciò, al fine di accertare la principale causa di questo comportamento, che è in contrasto con la rapidità di sviluppo e di acidificazione del suddetto germe in substrati ad esso più adatti (succhi ed infusi vegetali), è parso utile compiere ulteriori prove comparative impiegando i seguenti substrati:

Sali minerali - idrolizzato di caseina <sup>(1)</sup> - glucosio 2% + siero di latte sterile per filtrazione amicrobica 10% e 1%.

Sali minerali - idrolizzato di caseina <sup>(1)</sup> - glucosio 2% + infuso di trifoglio <sup>(2)</sup> sterile per filtrazione amicrobica 10% e 1%.

---

(1) Come nelle precedenti prove.

(2) G. 10 di trifoglio secco vennero trattati con 100 cc. di acqua distillata, lasciando in infusione a 45° per 30'.

I risultati ottenuti sono riprodotti dai diagr. IV, V, VI, VII, VIII e consentono di rilevare che l'acidificazione prodotta dal *Lact. sili* e dal ceppo 13 B, fermentando il glucosio in presenza di siero di latte, è effettivamente un po' più rapida di quella rilevata nelle esperienze precedenti nelle quali venne impiegato il lattosio. Però si osserva facilmente che, mentre per il *Lact. bulgaricus* il siero di latte ha agito più favorevolmente, come apportatore di fattori di accrescimento, che non l'infuso vegetale, per lo str. lattico, per il ceppo 13 B e più ancora per il *Lact. sili* si ebbe un risultato opposto. Si può anzi osservare che con l'aggiunta dell'infuso vegetale quest'ultimo germe ha potuto svilupparsi ed acidificare con rapidità notevole e nettamente maggiore della corrispondente del *Lact. bulgaricus*.

Si può quindi concludere che il *Lact. sili* presenta una spiccata sensibilità a qualche fattore stimolante presente nei vegetali e mancante o scarsamente contenuto nel latte.

Il caratteristico comportamento osservato nei riguardi dello Streptococco lattico (limitata acidificazione del latte, rapida ed intensa acidificazione del terreno alla caseina idrolizzata addizionato di piccole quantità di latte o di siero) ha suggerito l'opportunità di esaminare allo stesso modo altri cinque ceppi della medesima specie batterica, tutti isolati da latte inacidito spontaneamente, nell'intento di constatare delle eventuali differenze, degne di rilievo, soprattutto nei riguardi delle attitudini ad utilizzare i composti proteici del latte. L'andamento dell'acidificazione prodotta da questi microrganismi è riassunto dai dati della Tab. IV e dal diagr. IX, donde emergono differenze di comportamento piuttosto accentuate; mentre i ceppi 17 e 12 acidificano in modo analogo al ceppo 1, esaminato con le precedenti prove, e coagulano soltanto dopo 48-60 ore, i ceppi 14, 26 e 8 acidificano più rapidamente e coagulano il latte prima che siano trascorse le 24 ore. Le successive ricerche, compiute mediante il terreno alla caseina idrolizzata, con aggiunte di siero o di latte come nelle precedenti prove, e delle quali per brevità non si riportano i risultati, hanno poi consentito di dedurre che le suddette diversità di comportamento dipendono sia da differenti proprietà proteolitiche, sia anche da altre diversità di attitudini fisiologiche che ulteriori indagini potranno chiarire meglio.

TAB. IV- ACIDIFICAZIONE DEL LATTE PRODotta  
DA ALCUNI STREPTOCOCCHI

				pH dopo ore			
				17	24	42	66
Strept. lattico	ceppo	1		5.65	5.4	5.05	
»	»	»	8	4.6	4.3	4.1	
»	»	»	12	5.8	5.5	5.1	4.9
»	»	»	14	5.3	4.45	4.2	4.15
»	»	»	17	5.7	5.45	5.15	4.85
»	»	»	26	4.95	4.3	4.05	4.05

Si è visto in precedenza che la limitata acidificazione prodotta nel latte da alcuni streptococchi sia da attribuire essenzialmente ad una limitata capacità di idrolizzare le sostanze proteiche del detto substrato. Per confermare questa ipotesi si è fatto crescere lo Streptococco I in latte addizionato di peptone Witte nelle proporzioni di 0.005% - 0.025% - 0.05% - 0.025%. I fattori di accrescimento apportati con queste aggiunte sono evidentemente in quantità trascurabili in confronto a quelle contenute nel latte e perciò l'effetto delle aggiunte medesime è da attribuirsi pressochè esclusivamente al miglioramento della nutrizione azotata. I risultati delle determinazioni compiute sono esposti nella Tab. V e riprodotti dal diagr. X; da essi emerge chiaramente la netta influenza delle aggiunte fatte al latte, compresa quella esiguissima del 0.005%. Risulta così confermata l'importanza che il potere proteolitico, di cui sono variamente dotati i fermenti lattici, presenta nei confronti dello sviluppo in latte dei fermenti medesimi e quindi della rapidità dei processi fermentativi da essi determinati.

TAB. V — ACIDIFICAZIONE DEL LATTE ADDIZIONATO DI PEPTONE WITTE (STREPT. LATTICO CEPP0 I)

<i>Substrato</i>	pH dopo ore		
	17	24	67
Latte	5.85	5.6	4.8
» + peptone 0.005 %	5.6	5.35	4.6
» + » 0.025 %	5.15	4.9	4.2
» + » 0.05 %	4.75	4.15	4.0
» + » 0.25 %	4.25	4.15	3.9

I risultati ottenuti suggeriscono inoltre alcune considerazioni che si ricollegano al contenuto del latte in composti azotati non proteici che diversi Autori hanno dimostrato essere presenti in proporzioni corrispondenti al 5-6% circa dell'azoto totale. Fra questi composti sono stati identificati, in quantità più o meno esigue: urea, aminoacidi, acido orotico, lecitina, purine ecc. Viale (4) ebbe a riscontrare, come media di sette determinazioni, un contenuto di azoto aminico di 0,0086%, oltre che la presenza di triptofano e cistina. Trattasi di quantità piccole ma, se si considera che i detti composti costituiscono l'unica fonte di azoto direttamente assimilabile del latte, è agevole comprendere come ad essi possa competere una non trascurabile importanza nello sviluppo dei fermenti lattici e specialmente di quelli scarsamente dotati di proprietà proteolitiche. Si può osservare infatti che il suindicato contenuto percentuale di aminoacidi è dello stesso ordine di grandezza delle quantità di peptone che, addizionato al latte nelle prove precedentemente esposte, ha influito in modo ben palese anche nella esigua proporzione del 0,005% (0,0008% di azoto). Le ricerche di Viale dimostrarono che gli aminoacidi presenti nel latte normale appena munto non derivano dall'azione di enzimi, di natura tripsica od ereptasica, prodotti dalla ghiandola mammaria o d'origine batterica; perciò lo stesso Autore suppone che essi siano direttamente secreti dalla ghiandola e Bottazzi (5) ritiene che essi rappresentino l'eccesso non utilizzato nella sintesi delle proteine che la mammella compie con gli aminoacidi attinti dal sangue. È quindi probabile che

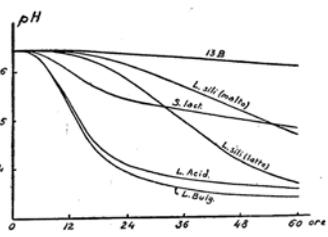
il contenuto del latte in composti azotati non proteici soggiaccia, per effetto di tutto un complesso di condizioni, fra cui particolarmente importante il tipo di alimentazione degli animali, a variazioni qualitative e quantitative che, pur non conferendo al latte una composizione anormale, — trattandosi in ogni caso di contenuti relativamente esigui — possono influire in modo accentuato sulle proprietà fermentative del latte stesso. Infatti è noto, specialmente in virtù delle osservazioni di Gorini (6), che il latte presenta delle caratteristiche di costituzione per cui, indipendentemente dalla composizione chimica rilevabile con i consueti metodi di analisi, lo sviluppo dei vari fermenti lattici risulta alquanto diverso da campione a campione. Le ricerche di Gorini hanno inoltre posto in evidenza che certi latti, che egli chiamò *disgenesici*, presentano una spiccata inettitudine colturale per alcuni fermenti lattici, i quali vi crescono molto stentatamente pur essendo capaci di buon sviluppo nel latte normale. Lo stesso Autore potè dimostrare che codesta *disgenesia* è dovuta alla carenza di un quid che può essere apportato o compensato con l'aggiunta di sostanze diverse, quali il peptone di caseina e l'estratto di lievito, sotto forma di vitamine o di un miglioramento della nutrizione azotata. Tutto ciò fa supporre che il latte presenti effettivamente una spiccata variabilità nei confronti di alcuni costituenti che, accessori per la loro esigua proporzione, sono di fondamentale importanza per il loro effetto sullo sviluppo di dati fermenti lattici, costituenti identificabili con alcuni composti azotati non proteici o con fattori di accrescimento.

Secondo le osservazioni di Gorini il suddetto carattere disgenesico sarebbe proprio di alcuni latti che si rivelano lenti a subire l'acidimento spontaneo e perciò impropri a date lavorazioni casearie.

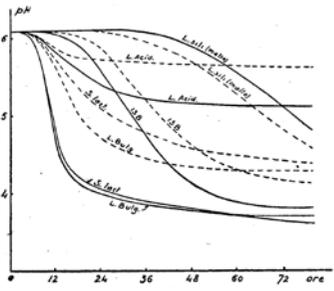
Tuttavia per un efficace studio dell'argomento, compresi i suoi aspetti tecnologici, conviene che il latte venga considerato distintamente come substrato colturale di singoli fermenti lattici e come substrato delle complesse fermentazioni che costituiscono l'acidimento spontaneo. Quanto è stato esposto in precedenza consente ora di affermare che il latte costituisce un terreno colturale diversamente favorevole allo sviluppo dei vari fermenti lattici, in quanto a condizionare lo sviluppo degli stessi intervengono principalmente le seguenti attitudini fisiologiche, diverse da specie a specie ed anche da ceppo a ceppo:

- Potere fermentativo per il lattosio;
- Utilizzazione dei composti proteici del latte (potere proteolitico);
- Esigenze di fattori di accrescimento.

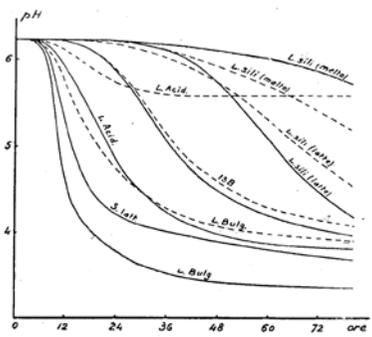
Donde si deduce che il latte è per sua natura un substrato più o meno *disgenesico* per tutti quei fermenti lattici che mancano di potere fermentativo per il lattosio, che sono incapaci, del tutto o quasi, di idrolizzare le proteine del latte o che, eventualmente, esigano speciali fattori di accrescimento non contenuti nel latte stesso. È evidente invece che i fermenti lattici capaci di fermentare il lattosio e dotati di potere proteolitico sufficientemente intenso il latte può non costituire un substrato favorevole solo nel caso che in esso facciano difetto i necessari fattori di accrescimento; non sembra che altri eventuali caratteri costitutivi del latte possano intervenire come cause limitanti lo sviluppo di codesti fermenti.



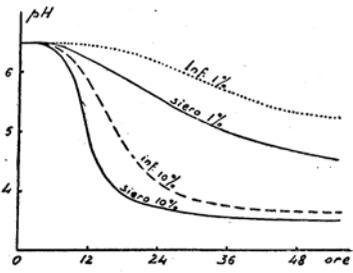
Diagr. I. Acidificazione in latte.



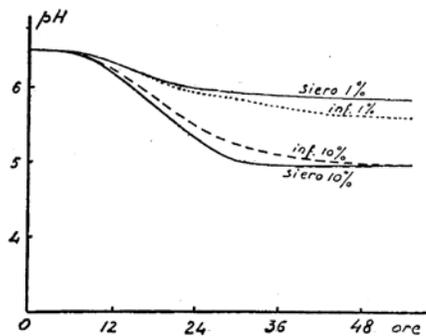
Diagr. II. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di siero di latte, in ragione del 10% e dell'1%.



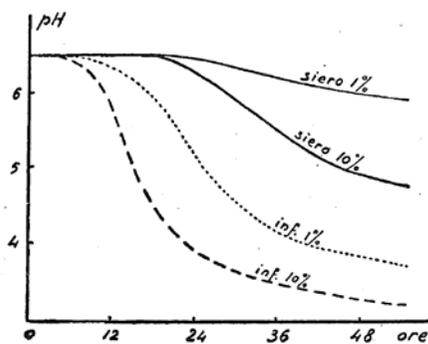
Diagr. III. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di latte, in ragione del 10% e dell'1%.



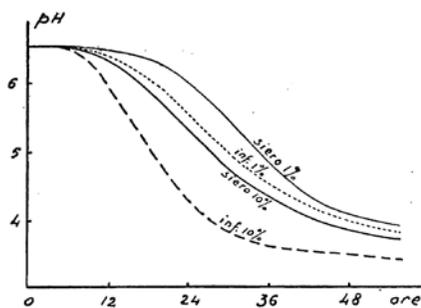
Diagr. IV. Lact. bulgaricus. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di siero di latte e di infuso vegetale.



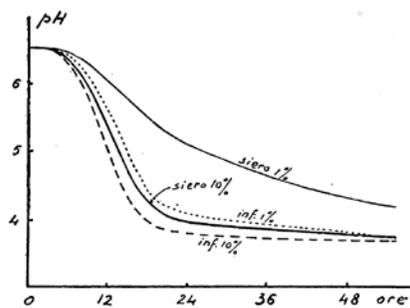
Diagr. V. *Lact. Acidophilus*. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di siero di latte e infuso vegetale.



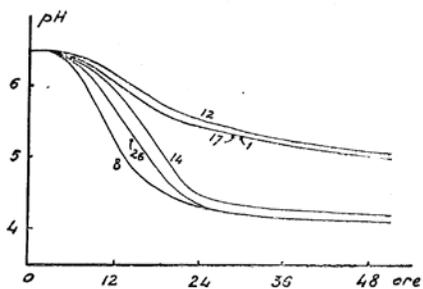
Diagr. VI. *Lact. sili*. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di siero di latte e infuso vegetale.



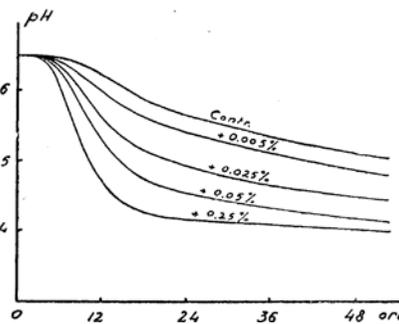
Diagr. VII. Ceppo 13 B. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di siero di latte e infuso vegetale.



Diagr. VIII. *Strept. Lacticus*. Acidificazione in terreno alla caseina idrolizzata, con addizione di siero di latte e infuso vegetale.



Diagr. IX. Acidificazione del latte prodotta da alcuni ceppi di *Strept. Lacticus*



Diagr. X. *Strept. Lacticus*, ceppo 1. Acidificazione del latte addizionato di quantità crescenti di peptone Witte.

Considerando il latte nei riguardi della sua fermentazione acida spontanea è evidente che il comportamento del latte medesimo risulta variabile sia in funzione della composizione qualitativa e quantitativa della microflora presente, sia anche in conseguenza delle variazioni più o meno pronunziate che si possono verificare nei suoi costituenti accessori. È però necessario tener presente che, accanto alla rapidità della acidificazione spontanea, in tema di attitudini fermentative del latte ha grande importanza l'influenza che i costituenti accessori possono esplicare principalmente attraverso un vario prevalere di microrganismi dotati di differenti proprietà fisiologiche.

#### RIASSUNTO

Dalle ricerche compiute risulta che a condizionare e limitare lo sviluppo in latte di alcuni fermenti lattici intervengono principalmente le seguenti attitudini fisiologiche, diverse da specie a specie ed anche da ceppo a ceppo: potere fermentativo per il lattosio, capacità di utilizzazione dei composti proteici del latte, esigenze di fattori di accrescimento o stimolanti. La ridotta capacità di utilizzare le proteine del latte, dovuta ad assai scarso potere proteolitico, rallenta e limita lo sviluppo e l'acidificazione di alcuni streptococchi ed è altresì la causa principale per cui alcuni fermenti lattici, lattosio fermentanti, crescono molto male e acidificano con grande lentezza. Particolarmente sensibile a stimolanti presenti nei vegetali e non contenuto nel latte, è il *Lact. Sili*.

Dalle ricerche compiute emerge infine l'importanza dei costituenti accessori del latte (composti azotati non proteici, fattori di accrescimento e stimolanti) sia nei confronti della rapidità di sviluppo dei singoli fermenti lattici in coltura pura, sia anche nei riguardi dei processi di fermentazione spontanea del latte stesso.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Aus den angestellten Untersuchungen ergibt sich, dass die Entwicklung einiger Milchfermente in Milch, hauptsächlich durch folgende, nicht nur von Art zu Art, sondern auch von Stamm zu Stamm verschiedene physiologische Eigenschaften bedingt und beschränkt wird: Gärungsvermögen gegenüber Milchzucker, Möglichkeit der Verwertung von Proteinkomplexen der Milch, Bedarf an Entwicklungs- oder Reizfaktoren. Die beschränkte Fähigkeit Proteine der Milch zu verwerten, die dem Mangel an proteolytischem Vermögen zuzuschreiben ist, verlangsamt und reduziert ausserdem die Entwicklung und die Ansäuerung einiger Streptokokken und ist ebenfalls die hauptsächlichste Ursache weshalb sich einige Milchzuckervergärende Milchfermente sehr schlecht entwickeln und sehr langsam ansäuern. Besonders empfindlich gegenüber Reizsubstanzen der Vegetalien ist der *Lact. Sili*, der in der Milch nicht enthalten ist.

Aus den angestellten Untersuchungen ergibt sich die Bedeutung der Nebenbestandteile der Milch (stickstoffhaltige, nicht proteine Komplexe, Entwicklungs- und Reizfaktoren) sowohl für die rasche Entwicklung der einzelnen Milchfermente in Reinkultur, als für spontane Gärungsprozesse der Milch selbst.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) *I. Politi* - Ricerche sui fermenti lattici. - Nota I (Questi Annali, 1940, I, pag. 65).
- (2) *S. Orla Jensen, N. C. Otte, Agnete Snog-Kjaer* - Die Stickstoffnahrung der Milchsäurebakterien. (Zentral. für Bakt II Abt., 1936, 94, pag. 460).
- (3) *S. Orla Jensen, N. C. Otte, Agnete Snog-Kjaer* - Der Vitaminbedarf verschiedener Bakterien ausserhalb der Gruppe der Milchsäurebakterien der Milch. (Zentr. für Bakt. II Abt., 1936, 94, pag. 447).
  - *S. Orla Jensen* - Les microorganismes et les vitamines. (Ann. des frement., 1937, 3, pag. 1).
  - *E. E. Snell, F. M. Strong, W. H. Peterson* - Pantothenic acid and nicotinic acid as growth factors for lactic acid bacteria (J. Amer. Chem. Soc. 1938, 60, pag. 2825. Jour. Bact. 1939, 38, pag. 293).
  - *E. E. Snell, W. H. Peterson* - Additional factors required by certain lactic acid bacteria. Jour. Bact. 1940, 39, pag. 273. Properties of a new growth factor for lactic acid bacteria. (J. Biol. Chem., 1939, 128).
  - *E. F. Moller* - Vitamin B<sub>6</sub> (Adermin) als Wuchstoff für Milchsäurebakterien. (Zeitschr. f. Phys. Chem., 1938, 254, pag. 285). Das Wuchsstoffsystem der Milchsäurebakterien. (Zeit. physiol. Chem., 1939, 260, pag. 246).
- (4) *G. Viale* - Biochim. e terap. sper., 1921, fasc. 11.
- (5) *F. Bottazzi* - Citato da P. Rondoni - Elementi di Biochimica, Torino, 1935.
- (6) *C. Carini* - Ricerche sul latte disgenesico. Rend. R. Acc. Lincei, nov. 1927, 6, pag. 338. Foraggi anticaseari e latte disgenesico. (La ricerca scientifica - Anno VII, Vol. I).