

ANNALI DI MICROBIOLOGIA

MEMORIE DI MICROBIOLOGIA GENERALE ED APPLICATA ALLA
AGRICOLTURA ALLE INDUSTRIE FERMENTATIVE ED ALIMENTARI; DI
ENZIMOLOGIAE CHIMICA DELLE FERMENTAZIONI NEI LORO RAPPORTI
CON LA MICROBIOLOGIA E LA BATTERIOLOGIA INDUSTRIALE

A CURA DEI PROFESSORI

T. CASTELLI, PERUGIA - G. DE ROSSI, PERUGIA - V. PEGLION, BOLOGNA
B. PEYRONEL, TORINO - R. PEROTTI, PISA - I. POLITI, MILANO
P. RENCO, MILANO - S. RICCARDO, NAPOLI - M. SACCHETTI, BOLOGNA
O. VERONA, FIRENZE

DIRETTA DA
C. ARNAUDI MILANO

Agosto 1948
Vol. IV - Fasc. I-II

Segretario di Redazione
V. TRECCANI

DIREZIONE: VIA CELORIA, 2 - AMMINISTRAZIONE: VIA SALASCO, 4

MILANO

NORME DI COLLABORAZIONE

Si accettano memorie originali italiane e straniere, purchè scritte in caratteri latini e dattilografate. Esse devono essere perfettamente corrette anche nella punteggiatura.

Ogni articolo deve essere corredato da un breve riassunto (non più di dieci linee) in italiano. Lo stesso deve essere pure riportato in tedesco o inglese o francese. Se l'Autore non ne fa l'invio in una delle due lingue verrà provveduto d'ufficio alla traduzione e la spesa relativa verrà addebitata ai signori autori.

Agli Autori dei lavori originali vengono concesse non più di 16 pagine di stampa; il numero di pagine in più sarà a carico dell'Autore al puro costo di stampa. Le modificazioni tipografiche che non siano semplici correzioni di errori di composizione saranno addebitate agli Autori a prezzo di costo.

I clichés, le tabelle e le tavole fuori testo sono a carico degli Autori.

Per gli estratti dei lavori gli Autori dovranno accordarsi direttamente con la Tipografia.

Per la bibliografia si prega di attenersi alle seguenti norme:

a) La bibliografia, col relativo numero di riferimento, deve essere scritta alla fine del lavoro; b) I numeri di riferimento bibliografico nel testo devono essere scritti tra parentesi; c) Le citazioni devono essere fatte nel seguente ordine: 1° Nome dell'Autore; 2° Titolo del lavoro; 3° Titolo del giornale abbreviato; 4° Anno; 5° Volume (in numero arabo, sottolineato); 6° N: delle pagine.

Il numero di chiamata nel testo di eventuali note ai piè di pagina deve essere scritto in alto piccolo e con una parentesi di chiusura.

Per i numeri decimali adoperare virgole e mai punti, così nel testo come nelle tabelle.

Adoperare sempre le seguenti abbreviazioni:

| | | | | | | | |
|--------------|------|-------------|------|----------------|-------|-------------|---------|
| chilogrammo | = Kg | metro | = m | centim. quadr. | = cmq | minuto se- | |
| ettogrammo | = hg | decimetro | = dm | millim. quadr. | = mmq | condo | = sec |
| grammo | = g | centimetro | = cm | | | | |
| decigrammo | = dg | millimetro | = mm | litro | = l | per cento | = % |
| centigrammo | = cg | micron | = μ | centim. cubo | = cc | per mille | = ‰ |
| milligrammo | = mg | | | ora | = h | normale | = N |
| millesimo di | | | | | | decimo norm | = 0, IN |
| grammo | = γ | metro quadr | = mq | minuto primo | = min | ph, Ph ecc. | = pH |

(tutti questi segni sempre senza punto)

Le formule chimiche devono essere scritte con gli indici in basso. Es. CaCl_2

SOMMARIO

| | PAGINA |
|---|--------|
| I. POLITI - C. COLLA - R. BENETTI - Ricerche sull'azione antibatterica di alcuni aminoacidi | 1 |
| P. RENCO - Cenni su alcuni caratteri dei cocchi acidoproteolitici di farina | 7 |
| I. POLITI - V. TRECCANI - Considerazioni e ricerche sulla fermentazione vinaria | 20 |
| E. CORBERI - Note sperimentali sul così detto latte «O» | 34 |

Prezzo di Abbonamento per ogni volume (costituito di 6 fascicoli)

ITALIA L. 2000 - ESTERO L. 3000 - UN FASCICOLO SEPARATO L. 300

Direttore responsabile, Prof. C. ARNAUDI

Ricerche sull'azione antibatterica di alcuni aminoacidi

I. Politi - C. Colla - R. Benetti

L'azione antibatterica e sulfamido-potenziatrice degli acidi amino-valerianico e aminocapronico è nota dalle ricerche di Vacirca (1) e di Deotto e Vacirca (2), sebbene non ne sia stato ancora chiarito il meccanismo biochimico. Sta di fatto però che codeste sostanze, pur potendo essere attaccate dai germi per via ossidativa ed utilizzate altresì come fonti di azoto, sono capaci di deprimere fortemente l'ossidazione respiratoria del glucosio e di ostacolare od impedire completamente la moltiplicazione cellulare di taluni schizomiceti.

La singolarità di codeste azioni, esplicate da normali costituenti proteici, come in realtà sono i suddetti aminoacidi, ha indotto ad effettuare alcune indagini di cui si espongono qui i risultati. Si impiegarono germi delle seguenti specie: *B. mesentericus niger* Lünt, *B. prodigiosus*, *Flavobacterium dehydrogenans*, *Corynebacterium mediolanum* e l'acido amino-valerianico posta in commercio dall'Istituto Sieroterapico Milanese sotto il nome di Vazim.

La ricerca venne condotta mediante la tecnica manometrica di Warburg per la determinazione diretta del consumo di ossigeno e con sospensioni batteriche ottenute da piastre di agar comune, filtrate per garza e centrifugate. Per ogni ceppo la respirazione venne controllata comparativamente, in assenza ed in presenza di norvalina (concentrazione in vaschetta corrispondente al 0,83% di Vazim), nei seguenti substrati:

- brodo comune;
- liquido di Sahyun;
- liquido di Sahyun senza solfato ammonico;
- liquido di Sahyun senza glucosio.

Le esperienze vennero predisposte ponendo nella cavità principale della vaschetta cc. 2 di substrato e cc. 0,5 di sospensione batterica; nel pozzetto centrale cc. 0,1 di KOH al 10%; nella appendice laterale cc. 0,5 di soluzione fisiologica o di Vazim al 5%. Temperatura del bagno 30°C. N. 50 oscillazioni complete al minuto.

Dal complesso dei risultati delle determinazioni, riassunti nella tabella I, sono emersi i seguenti rilievi:

— in brodo comune il Vazim esplica una netta azione deprimente sulla respirazione di tutti i quattro ceppi;

— in liquido di Sahyun, ove i ceppi sperimentati, ed in particolare il *Flavobacterium dehydrogenans* ed il *Corynebacterium mediolanum* sono suscettibili di scarsa crescita, si riscontra invece una netta azione deprimente solo per il *B. mesentericus* e per il *C. mediolanum*; scarsa invece è l'azione su *B. prodigiosus*, mentre per il *Fl. dehydrogenans* si ha una respirazione più intensa;

— in liquido di Sahyun senza solfato ammonico si ha un'azione deprimente solo per il *B. mesentericus niger*; per il *C. mediolanum* non si osserva alcuna differenza, mentre per gli altri due germi la respirazione è più intensa in presenza del Vazim;

— in liquido di Sahyun senza glucosio, eccettuato il *C. mediolanum*, la presenza del Vazim intensifica la respirazione.

Dal comportamento in questi due ultimi substrati non emergono sicure indicazioni nei riguardi della capacità dei germi impiegati ad utilizzare l'acido aminovalerianico come substrato respiratorio e come fonte di azoto, tanto più che il Vazim non è un aminoacido allo stato di grande purezza e le influenze constatate potrebbero essere determinate anche dalle impurità del prodotto stesso.

L'influenza dell'acido aminovalerianico è stata successivamente sperimentata, ancora con le modalità sovraesposte, su un ceppo di *Phytomonas tumefaciens*, suscettibile di buon sviluppo pure in liquidi sintetici a base di solo glucosio e sali minerali.

A differenza di quanto era stato constatato per i precedenti microrganismi, l'azione del Vazim è qui risultata come diretta ad intensificare la respirazione, sia in brodo che in liquido di Sahyun.. Codesto inatteso comportamento ha indotto a ripetere l'esperienza con acido aminovalerianico depurato mediante ricristallizzazione. È risultato così che in realtà l'acido aminovalerianico è atto a deprimere nettamente anche l'attività respiratoria del *Phytomonas* e che l'azione stimolante verificatasi nella precedente esperienza era da attribuirsi ad impurità dell'acido greggio impiegato (Tab. II).

Le esperienze di cui sopra vennero integrate da prove colturali le quali dimostrarono chiaramente che l'acido aminovalerianico è atto ad esplicare un'azione batteriostatica, vale a dire inibitrice dei processi moltiplicativi. Ciononostante il meccanismo per cui questo aminoacido agisce come antibiotico sfugge per ora ad una soddisfacente spiegazione. Peraltro venne posto il quesito se tale azione sia specifica di aminoacidi di determinata struttura (ad esempio a catena lunga, come l'aminovalerianico e l'aminocapronico), o se invece non sia una proprietà comune a tutti gli aminoacidi, od a buona parte di essi, e più o meno netta e palese a seconda della natura dei germi, della composizione del substrato e di altre condizioni sperimentali.

Per questa ragione si ritenne interessante sviluppare le ricerche con gli aminoacidi più semplici: glicina, alanina, leucina, saggiate ancora su *Phytomonas tumefaciens*.

L'indagine venne condotta mediante prove di coltura in liquido di Sahyun modificato nei riguardi del componente azotato. Per la glicina venne anche

controllata l'influenza sull'attività respiratoria mediante misure manometriche con l'apparecchio di Warburg.

Con un'esperienza preliminare si poté accertare che in presenza di solfato ammonico, in proporzioni comprese fra il 0,2 ed il 3 per mille di azoto, si ha una crescita praticamente costante.

L'influenza dei singoli aminoacidi venne quindi controllata a dosi variabili sia in assenza che in presenza di solfato ammonico in proporzioni corrispondenti all'1, 2 e 3 per mille di azoto.

Sono così emerse le seguenti constatazioni:

— glicina e leucina vengono utilizzate come fonti di azoto fino ad una certa concentrazione; non utilizzata od utilizzata con una certa difficoltà sembra invece l'alanina;

— oltre una certa concentrazione tutti e tre gli aminoacidi manifestano una palese azione inibente, sia in assenza che in presenza di solfato ammonico, azione che però non è costante, ma varia d'intensità da una prova all'altra, a seconda della quantità di azoto ammoniacale presente nel substrato, della massa microbica di innesto e verosimilmente anche di altre condizioni riflettenti lo stato fisiologico delle cellule. Per questa ragione l'esito di singole prove non può avere che un semplice valore indicativo. Comunque le osservazioni effettuate si possono così riassumere:

— la glicina ha manifestato una palese azione rallentatrice a concentrazioni superiori al 0,1% ed un'azione talvolta completamente inibitrice al 0,15%;

— con l'alanina si ha azione rallentatrice al di sopra del 0,3% ed inibitrice verso od oltre il 0,5%;

— con la leucina l'effetto batteriostatico si manifesta specialmente con un notevole ritardo della crescita già al 0,2%, però una azione decisamente inibitrice si ha solo verso od oltre il 2%.

L'influenza deprimente della glicina sull'attività respiratoria risulta chiaramente dai dati della tab. II.

Il complesso delle ricerche effettuate consente di pervenire alla interessante conclusione che gli aminoacidi in genere o buona parte di essi, indipendentemente dal loro peso molecolare e nonostante la loro eventuale attitudine ad essere utilizzati come fonte di azoto, possono esplicare un'attività antibatterica, deprimente la respirazione ed inibente i processi moltiplicativi, la quale risulterebbe più o meno intensa in dipendenza anche di molteplici condizioni riguardanti sia il substrato culturale, sia le cellule microbiche presenti.

Il meccanismo di tale azione sfugge per ora ad una soddisfacente spiegazione; è però da ritenersi analogo a quello attraverso cui si esplica l'azione rilevata da Niels Nielsen e Vagn Hartelius (3) per taluni fattori auxinici dei lieviti, che pure sono degli aminoacidi (alanina, asparagina, lisina, arginina, ecc.) e che in determinate condizioni possono esplicare un'azione tossica.

RIASSUNTO

Dalle ricerche compiute risulta che non soltanto gli acidi aminovalerianico e aminocaproico, segnalati da altri Autori, sono atti ad esplicare una azione antibatterica deprimente i processi respiratori ed inibente quelli moltiplicativi, ma che anche gli aminoacidi più semplici come la glicina e l'alanina possono agire allo stesso modo. Pertanto si ritiene che tale proprietà sia comune a buona parte degli aminoacidi ed abbia solo a manifestarsi in diversa misura, in dipendenza anche di condizioni relative alla composizione del substrato, alla natura ed allo stato fisiologico dei germi.

SUMMARY

From research carried out it has been proved that not only the aminovalerianic and amino-caproic acids, mentioned by other authors, are suited for the production of an antibacterial action, slowing the respiratory process and preventing that of reproduction, but also simpler aminoacids, glycine, alanine, can produce the same results. Consequently this property is considered as common to the greater number of the aminoacids and appears only to vary in degree, according to the composition of the substratum, the nature and the physiological state of the germs.

BIBLIOGRAFIA

- (1) F. Vacirca: « Boll. I. S. M. », 22, 172, 285, 1943.
- (2) R. Deotto e F. Vacirca: « Boll. I. S. M. », 23, 1944.
- (3) Niels Nielsen e Vagn Hartelius: « Biochem. Zeitschr. » 295, 211, 1938.

Pervenuto in redazione il 15 luglio 1947.

Influenza dell'acido aminovalerianico (Vazari) sulla respirazione di alcuni schizomiceti
Consumi di ossigeno in mmc.

TABELLA I

| SUBSTRATO | Corynebacterium mediolanum | | Flavobacterium dehydrogenans | | B. mesentericus niger | | B. prodigiosus | |
|---|-------------------------------|-------|---------------------------------|-------|-----------------------|-------|----------------|-------|
| | 60' | 120' | 60' | 120' | 120' | 60' | 60' | 120' |
| Liq. di Sayum | 153,6 | 314,7 | 53,5 | 107,7 | 88,3 | 226,3 | 132,1 | 314,2 |
| Liq. di Sayum + norvalina | 143,7 | 283,4 | 73,1 | 135,1 | 77,4 | 140,8 | 155,9 | 303,8 |
| Liq. di Sayum senza NH ₄ | 159,0 | 311,6 | 41,1 | 82,2 | 87,1 | 187,2 | 134,6 | 274,6 |
| Liq. di Sayum + norvalina | 155,7 | 312,2 | 57,0 | 116,1 | 67,5 | 125,3 | 161,5 | 323,7 |
| Liq. di Sayum senza glucosio | 10,5 | 14,0 | 11,2 | 19,6 | 19,2 | 35,7 | 9,7 | 20,2 |
| Liq. di Sayum + norvalina | 8,7 | 12,0 | 31,9 | 59,8 | 24,0 | 42,9 | 14,0 | 28,6 |
| Brodo comune | 326,9 | 630,2 | 218,9 | 491,1 | 241,1 | 693,5 | 301,5 | 583,7 |
| Brodo comune + norvalina | 264,9 | 515,5 | 188,9 | 208,6 | 208,6 | 570,0 | 248,5 | 478,0 |
| Massa microbica (come sostanza sec- ca) mgr. | 2,44 | 1,47 | 2,3 | 2,53 | | | | |

Influenza della norvalina e della glicina sulla respirazione di *Phytomonas tumefaciens*.
Consumi di ossigeno in mmc.

TABELLA II

| SUBSTRATO | NORVALINA | | GLICINA | |
|--|-----------|-------|---------|-------|
| | 60' | 120' | 60' | 120' |
| Soluzione fisiologica | 7,0 | 12,0 | 4,7 | 13,3 |
| Liq. di Sayum | 120,0 | 281,0 | 69,3 | 163,6 |
| Liq. di Sayum+aminoacido (1) | 103,8 | 203,0 | 29,0 | 66,2 |
| Liq. di Sayum senza ammonio | 87,7 | 177,4 | 66,4 | 130,7 |
| Liq. di Sayum senza ammonio+aminoacido | 103,3 | 188,8 | 47,8 | 93,3 |

(1) In concentrazione equivalente come azoto al solfato ammonico del liquido di Sayum.

Paolo Renco

Cenni su alcuni caratteri dei cocchi acidoproteolitici di Gorini.

Il gruppo degli acidoproteolitici di Gorini, comprende un certo numero di specie microbiche aventi in comune la capacità di attaccare contemporaneamente gli idrati di carbonio e le sostanze proteiche, che vengono degradate in ambiente acido.

Ciò si può mettere in evidenza in particolar modo nel latte che essi coagulano per produzione simultanea di acidità e di presame (onde furono da Gorini detti anche « acidopresamigeni »), dopodichè digeriscono più o meno profondamente il coagulo sempre in reazione acida.

La maggioranza degli acidoproteolitici è rappresentata dai cocchi, i caratteri dei quali sono stati descritti nei numerosi lavori del Gorini, partendo dal 1892 (scoperta dei medesimi per opera dello stesso Gorini) e di altri autori italiani e stranieri.

Questi cocchi, particolarmente diffusi nel latte e nei latticini, sono stati raggruppati, afferma Gorini, in base alla loro provenienza e denominati mammococchi, gastrococchi, enterococchi e caseococchi, non per farne altrettante specie, ma per stabilire che un medesimo genere di batteri, appartenenti alla classe enzimatica da lui scoperta e ritenuta di significato caseario (1892-94), risiede in località fra loro connesse (mammella, caglio vitellino, contenuto intestinale) da dove tali batteri possono passare nel latte e nel cacio.

Il presente breve lavoro è stato fatto con lo scopo di vedere se esistono differenze fisse tra i singoli ceppi di diversa provenienza e di osservare, durante un periodo piuttosto lungo (due anni circa), il comportamento di alcuni dei principali caratteri morfologici e fisiologici di facile rilievo onde permettere un rapido isolamento degli stessi.

Le esperienze sono state eseguite su 18 ceppi gentilmente favoriti dal prof. C. Gorini.

I ceppi avuto dal prof. C. Gorini furono i seguenti: Mammococcus 1, 2, 3; Gastrococcus 1, 2; Enterococcus 1, 2, 5; Caseococcus 1, 4, 5, 6, 7 8, 9, 10, 11, 12.

Sono stati presi in esame i seguenti caratteri:

- 1) forma delle colonie sull'agar-latte;
- 2) forma delle cellule microbiche;
- 3) forma del coagulo digerito nel latte magro;

- 4) capacità di fermentare gli idrati di carbonio;
- 5) riduzione dei nitrati;
- 6) produzione della catalasi;
- 7) liquefazione della gelatina.

1 - *Forme delle colonie sull'agar-latte.* — Le colonie sono state ottenute con striscio sull'agar-brodo-latte o agar-siero-peptone-latte (due parti di agar ed una parte di latte magro, pH= 6.8, a 30° C. Le piastre venivano esaminate ogni 24 ore per dieci giorni consecutivi.

Le colonie di tutti i ceppi assumevano le massime dimensioni dopo 5 o 6 giorni di incubazione. Entro questo periodo i ceppi in esame hanno dato luogo a 4 tipi di colonie, tipi che si differenziavano sostanzialmente solo per le dimensioni e per entità di proteolisi. Tutte erano di colore bianchiccio, un po' lucide, di struttura uniforme (salvo Mammococcus 1) e con margine liscio.

Nei riguardi delle dimensioni si è potuto osservare quanto segue: Enterococcus 1, 2, 5; Gastrococcus 2 e Caseococcus 5, 6, 7, 8, 9, 11 hanno dato luogo a colonie piccole del diametro di 1/2 sino a 3/4 di mm.; mentre Mammococcus 1, 2, 3; Gastrococcus 1 e Caseococcus 1, 4, hanno sviluppato colonie piuttosto grosse e precisamente del diametro di circa 2 mm. Dallo striscio ottenuto con il Mammococcus 1 si sono sviluppati due tipi di colonie delle stesse dimensioni, ma costantemente di struttura diversa: una nettamente granusola, visibile anche ad occhio nudo, l'altra invece uniforme; i cocci ottenuti dai due suddetti tipi non hanno presentato altre differenze (né culturali né morfologiche). Infine il Caseococcus 10 e Caseococcus 12 hanno dato colonie alquanto grosse e spesse: il loro diametro si aggira attorno ai 5 mm.

E' stato notato in linea generale che i cocci di dimensioni piccole danno anche le colonie relativamente piccole (Enterococcus 1, 2, 5; Caseococcus 5, 6, 7, 8, 9, 11 e Gastrococcus 2) mentre le colonie grosse sono dovute ai cocci relativamente grossi.

Indipendentemente dalla forma delle colonie, i singoli ceppi presentano nell'agar-latte un comportamento diverso nei riguardi della proteolisi. Questa si manifesta colla digestione della caseina intorno alla colonia in modo da rendere l'agar trasparente; talvolta la zona trasparente risulta circondata da un alone un po' più opaco del terreno nutritivo stesso.

Per la maggioranza dei ceppi si poteva osservare la proteolisi già dopo 24 ore; precisamente per il Mammococcus 2 e Gastrococcus 1 questa era appena accennata; per il Caseococcus 4 molto netta; assai netta era pure il Caseococcus 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 ed Enterococcus 5 che presentavano, inoltre, attorno alla zona digerita un alone opaco. Invece le colonie dell'Enterococcus 1, Mammococcus 1 e 3, Caseococcus 1 presentavano la proteolisi appena dopo 3 giorni di termostato; le colonie di Caseococcus 1 si circondavano anche di un alone opaco. Infine l'Enterococcus 2 e Gastrococcus 2 non presentavano alcuna proteolisi attorno alle colonie anche dopo 10 giorni di incubazione. Le colonie di questi ultimi due ceppi, che apparen-



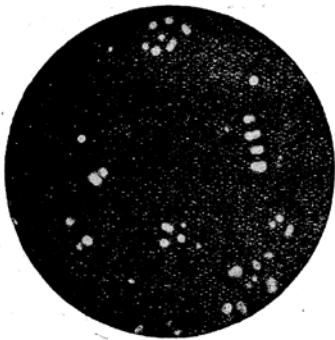
MAMMOCOCCUS 1

(2120 X)



CASEOCOCCUS 6

(2120 X)



CASEOCOCCUS 2

(2120 X)

mente non presentavano nelle piastre alcuna digestione della caseina, trapiantate nel latte magro davano una nettissima proteolisi (Vedi pag. 2). Il singolare comportamento dei suddetti due ceppi assume notevole importanza per l'isolamento degli acidoproteolitici, qualora questo venga fatto sull'agar-latte, inquantochè vi si possono sviluppare le colonie di detti germi senza presentare la caratteristica chiarificazione.

2 - *Forma delle cellule microbiche.* — I cocci sono rappresentati sostanzialmente da 4 tipi di forme :

1) Enterococcus 1, 2, 5; Gastrococcus 2; Caseococcus 5, 6, 7, 8, 9, 11; si presentano sotto forma di piccoli cocci rotondi e leggermente elettici, con un diametro di 0,6-0,8 μ . Generalmente sono raggruppati a caso, talvolta anche a due a due.

2) Caseococcus 10 e 12 hanno la forma e le dimensioni piuttosto irregolari. Le forme più grosse ($d=1,6-1,8 \mu$) assomigliano a chicchi di caffè; per lo più sono riuniti a due a due e spesso anche in tetradi. I più piccoli sono ovali o rotondi ($d=0,5-0,8 \mu$) e si presentano isolati o irregolarmente raggruppati.

3) Mammococcus 2, 3 e Gastrococcus 1 assomigliano ai precedenti, ma hanno le dimensioni più uniformi ($d=1,0-1,2 \mu$) e forme più regolari.

4) Mammococcus 1 e Caseococcus 1 e 4 sono tipici streptococchi di forma allungata ed assai simili ad un chicco di orzo, ad estremi leggermente appuntiti, raramente un po' arrotondati. Il diametro maggiore è di 0,8-1,0 μ . Sono riuniti sempre due a due oppure in catene, talvolta lunghissime.

Risulta chiaramente che i germi elencati sotto n. 1, 2 e 3 sono micrococchi, mentre quelli elencati sotto il n. 4 sono degli streptococchi.

3 - *Forma del coagulo digerito nel latte magro.* — Sono state adoperate provette contenenti 10 cc. di latt magro sterilizzato a 100° C. per 15' per tre giorni consecutivi. (Perchè il latte non si alteri in particolar modo nel colore è necessario che la temperatura di 100 venga raggiunta in tempo piuttosto breve, altrimenti la colorazione tende verso il brucicco come quando la sterilizzazione viene fatta a 115° C. per 15'). Durante un periodo di circa due anni furono fatti numerosi trapianti in due provette parallele; una venne tenuta a 30° C. per 15 giorni e l'altra a 30° C. per un giorno e per gli altri 14 giorni a circa 20-22° C. Le provette furono tenute in posizione perfettamente verticale.

Tutti ceppi trasformarono il latte in circa 20 ore di coagulo abbastanza compatto, completamente uniforme e senza separazione di siero. Dopo due giorni circa incominciava la digestione del coagulo, dando a questi varie forme che dopo dieci giorni circa non cambiavano più, all'infuori della dimensione.

Le forme del coagulo digerito si possono dividere sostanzialmente in due tipi:

1) Il coagulo viene digerito solo da una parte e spinto lateralmente verso una parte della provetta alla quale rimane attaccato.

2) Il coagulo viene digerito tutto intorno e si appoggia solo in un punto sulla parete.

Naturalmente non mancano dei coaguli di forma intermedia, cioè aderenti solo parzialmente alla parete della provetta.

Tutti i tipi possono presentare talvolta fessure trasversali o longitudinali; inoltre si presentano più o meno trasparenti, talvolta con un leggero cambiamento di colore che va dal bianco al giallognolo. Il siero che si forma intorno al coagulo digerito è generalmente limpido, raramente torbido.

Passando in esame i ceppi studiati si è potuto constatare che, solo per pochi, il coagulo digerito si presenta sempre sotto la stessa forma, mentre nella maggior parte questa assume aspetti diversi. (Nella tavola n. I sono state messe in evidenza, per singoli ceppi, le varie forme del coagulo a cui questi hanno dato luogo in trenta trapianti consecutivi nel periodo di due anni circa. I numeri arabi sopra ciascun tipo di coagulo indicano quante volte questo è stato formato per ogni singolo ceppo).

Così il Mammococcus 1, Mammococcus 2, Enterococcus 1, Enterococcus 2, Gastrococcus 1, Gastrococcus 2, Caseococcus 4, Caseococcus 6, Caseococcus 12, presentano talvolta i coaguli digeriti del primo tipo, cioè aderenti alle pareti e talvolta del secondo tipo; non mancarono le forme di aspetto intermedio e non di rado con fessure trasversali o longitudinali. Il Mammococcus 3 presenterà sempre coaguli del primo tipo, cioè spinti lateralmente verso una parete, per lo più lungo tutto il coagulo, talvolta solo parzialmente, mai del secondo tipo. L'Enterococcus 5, Caseococcus 1, 5, 7, 8, 9 e 11 presentavano costantemente i coaguli digeriti del secondo tipo, talvolta con fessure e digestioni più o meno profonde. Il Caseococcus 10, un proteolitico filante, presentava sempre il coagulo compatto senza alcuna separazione del siero, coagulo che però col tempo diventava leggermente trasparente. La mancata separazione del coagulo è quasi sicuramente dovuta alla formazione di muco, perchè, dopo alcuni giorni di coagulo, presentava un certo grado di trasparenza.

Il rilievo fatto da Gorini che alcuni cocchi acidoproteolitici non danno proteolisi microscopica nel latte sterilizzato a temperature relativamente alte, è stato messo in evidenza per due ceppi e precisamente per il Mammococcus 2 e per l'Enterococcus 2. Detti cocchi non digerivano il coagulo qualora venivano coltivati nel latte sterilizzato a 115° C. per 15' mentre mostravano una netta digestione nel latte sterilizzato a 100° C. per 15' per tre giorni consecutivi. Però anche in questo caso è stato già osservato che bisognava raggiungere rapidamente i 100° C.

4 - *Capacità di fermentare glucidi ed alcoli polivalenti.* — Come terreno base è stata adoperata l'acqua di lievito al 10% (privata degli zuccheri con un ceppo di Bact. coli) ed aggiunta di 0,5 = di estratto di carne Liebig, 0,5% di peptone Witte e 2% di zucchero in esame. L'acidità veniva titolata col'idrato di sodio decinormale dopo 10 giorni di permanenza della coltura a 30° C.

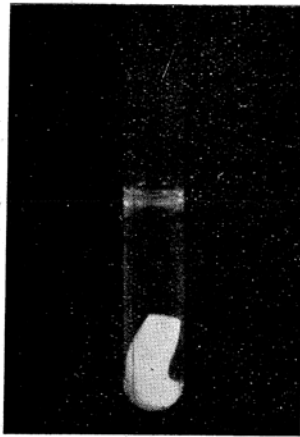


MAMMOCOCCUS 1

Cultura in latte magro
(di 10 giorni a 30° C.)

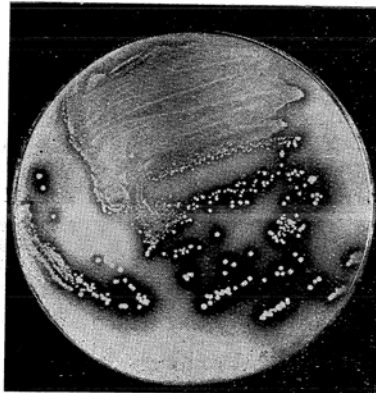
GASTROCOCCUS 2

Cultura in latte magro
(di 10 giorni a 30° C)



ENTEROCOCCUS 2

Culture in latte magro
(di 10 giorni a 30° C)



MAMMOCOCCUS 3

Striscio sull'agar-latte magro
(di 3 giorni a 30° C)

Per ogni ceppo fu determinata l'acidità sviluppata anche nel terreno base tale e quale (cioè senza aggiungere le sostanze necessarie per la determinazione della capacità fermentativa), inquantochè si è constatato che quasi tutti i germi producevano sempre un lieve grado di acidità, probabilmente dovuto a tracce degli zuccheri presenti nel terreno.

Nel calcolo dell'acidità prodotta nel terreno zuccherato, si sottraeva quella dovuta al solo terreno base.

Come risulta dalla tabella n. 2, singoli ceppi dei cocchi acidoproteolitici rappresentano capacità fermentative alquanto dispartate; anche quelli compresi sotto i nomi Mammococcus, Gastrococcus, ecc. non presentano in comune i suddetti caratteri.

5 - Riduzione dei nitrati. — Le colture furono allestite in brodo comune al quale è stato aggiunto il nitrato di potassio al 0,1%. L'esame venne eseguito dopo 1°, 2°, 4°, 7°, giorno. Dopo aver osservato la produzione di gas, si procedette alla ricerca dei nitrati con i seguenti reattivi:

1) Si sciolgono gr. 8 di acido solfanilico in 1 litro di 5/n di acido acetico (1 parte di acido acetico glaciale in 2,5 di acqua) oppure in 1 litro di acido solforico diluito (1 parte di acido solforico concentrato in 20 parti d'acqua).

2) Si sciolgono gr. 5 di alfa naftilamina in 1 litro 5/n di acido acetico oppure in un litro di acido solforico fortemente diluito (1 parte di acido solforico concentrato in 125 parti di acqua). Si versano alcune gocce di ciascuno dei due reagenti nella cultura e si osserva il cambiamento di colorazione. La comparsa di color rosa o rosso indica la presenza di nitrati.

Hanno ridotto i nitrati in nitriti Mammococcus 2, Mammococcus 3, Gastrococcus 1, Caseococcus 10 e Caseococcus 11; gli ultimi due hanno dato una reazione particolarmente spiccata. Tutti e tre i ceppi a forma streptococcica non hanno mai dato luogo alla riduzione, mentre per gli altri la riduzione si presentava dubbia o non veniva constatata affatto.

6 - Produzione della catalasi. — La ricerca della catalasi venne eseguita nel seguente modo: Nelle provette contenenti 10 cc. di coltura in latte magro (dopo 10 giorni di incubazione a 30° C.), dopo energica agitazione e previa aggiunta di 5 cc. di acqua, si versavano 5 cc. di acqua ossigenata al 3,6%, cioè sino a riempire completamente le provette. Dopo una rapida agitazione si chiudeva con un tappo forato portante un tubicino di vetro piegato a S la lettura si eseguiva dopo 6 ore di permanenza a 25° C. L'ossigeno venne prodotto rapidamente ed in notevoli quantità, da riempire 1/2 - 4/5 della provetta entro 10-15 minuti primi o non venne prodotto affatto. Hanno prodotto la catalasi: Mammococcus 2 e 3, Gastrococcus 1, Caseococcus 10 e 12. Morfologicamente si tratta di stafilococchi di dimensione relativamente forti e spesso uniti in tetradi, talvolta due a due, della forma di chicchi di caffè.

7 - Liquefazione della gelatina. — Tutti i ceppi studiati hanno liquefatto la gelatina semplice e lattosata. La fluidificazione ebbe sempre inizio dopo 24 ore e proseguì nei seguenti giorni sempre più intensamente per rag-

giungere il massimo al decimo-dodicesimo giorno.

Le provette furono tenute in osservazione per un mese circa. Alla fine di questo periodo tutti i ceppi, ad eccezione del Mammococcus 2, non liquefacevano la gelatina sino al fondo ma solo per circa 8/4 del suo contenuto nella provetta. Per il Mammococcus 2 la liquefazione risultò totale e completa. Per il Mammococcus 1 e Caseococcus 4 la parte liquefatta risultò torbida, mentre per gli altri limpida.

Nei riguardi della forma della liquefazione, non si ebbero sostanziali differenze in quanto questa avvenne sempre ad « imbuto », più o meno pronunciato.

Nelle culture di 30 giorni è stato misurato il pH che oscillò nella gelatina lattosata tra il 5,0 e il 5,2.

CONCLUSIONI

Dall'esame di 18 ceppi di cocchi acidoproteolitici liquefacenti la gelatina — cortesemente fornitimi dal Prof. C. Gorini — è stato constatato quanto segue.

I cocchi in parola si presentano sostanzialmente sotto due forme diverse; streptococchi riuniti due a due o in lunghe catene e micrococchi, dei quali un primo gruppo di dimensioni relativamente piccole ed uniformi, ammassati irregolarmente, ed un secondo gruppo di dimensioni e forme varie spesso riuniti a tetradi.

Le forme microbiche in linea generale rispondono a determinati tipi di colonie.

Per la maggioranza dei ceppi la forma del coagulo digerito nel latte magro non si presenta sempre nello stesso modo; solo per pochi questa risulta tipica e costante.

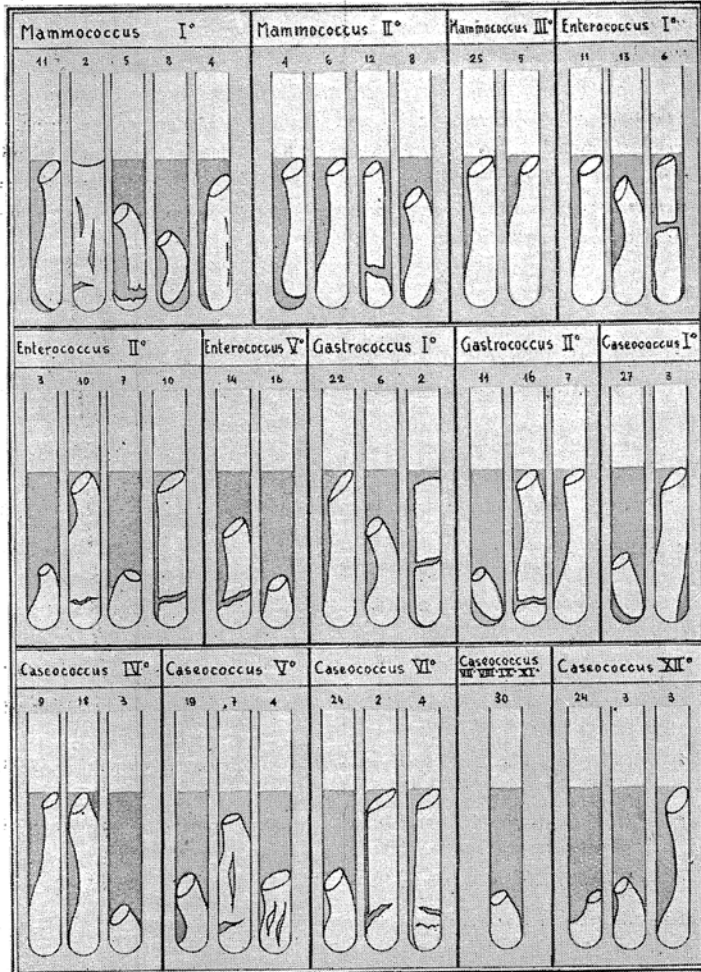
Si conferma la constatazione di Gorini che solo il latte sterilizzato a 100° C. per 15' per tre giorni si presta bene sempre per la suddetta dimostrazione.

Salvo poche eccezioni tutti i ceppi dimostrano la loro attività proteolitica anche nelle piastre agar-latte magro con una zona chiara attorno alle colonie, talvolta circondata da un alone opaco.

La catalasi viene prodotta solo da alcune forme stafilococciche. Lo stesso vale per la riduzione dei nitrati.

Infine si è potuto notare che le denominazioni Mammococcus, Gastrococcus, Enterococcus e Caseococcus non rappresentano specie microbiche, tipi o ceppi ben determinati e spesso comprendono cocchi con caratteri morfologici e talvolta anche fisiologici diversi; d'altra parte anche due o tre dei suddetti nomi comprendono ceppi morfologicamente e fisiologicamente uguali.

TAVOLA N. 1



SUMMARY

The A. has studied 18 strains of Gorini's acid-proteolytic and liquefying cocci, with particular reference to the form of rennet digested in the milk.

For almost all the strains the form of the rennet digested in stunted milk does not always appear in the same manner; it results only in a few strains typical and constant.

It has further been observed that the denominations « Mammecoccus », « Gastrococcus », « Enterococcus » and « Caseococcus » are not referring to well determined microbial species, types or strains and frequently include cocci with different morphological and sometimes also physiological characteristics; it has likewise been observed that two or three of these names are comprising equal strains.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Ciferri R. e Brunetto S. - *Il metodo Gorini « latte su agar cultura » per lo studio del potere chimasico di attinomiceti e lieviti.* Atti Ist. Bot. di Pavia, Vol. V, 241, 1934.
- 2) Corberi E. - *Ricerche sopra i cocchi acido proteolitici del Gorini.* Archiv. v. Mikrobiologie, 9, 95, 1938.
- 3) Frazier e Rupp - *On the protheolytic organisms of milk.* J. Bact 16, 57-78, 1928.
- 4) Gorini C. - *Sopra una nuova classe di batteri coagulanti del latte.* Giornale della R. Società Italiana d'Igiene, Anno XIV, 4, 1894.
- 5) — *Sui batteri acidopresamigeni del latte.* Rendiconti del R. Ist. Lomb. di Sc. e Lett., 34, 1279, 1901.
- 6) — *Sui batteri dei dotti galattofori delle vacche.* Rend. R. Acc. Lincei, 2, 159, 1902.
- 7) — *Sur la clasification des bactéries du lait au point de vue de la laiterie.* Revue Générale du lait, 3, N. 8, 1904.
- 8) — *Sulla presenza di batteri acido presamigeni nei formaggi in maturazione.* Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett. 37, 939, 1904.
- 9) — *I batteri acidopresamigeni del latte in rapporto all'igiene della mungitura.* Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett. 39, 236, 1906.
- 10) — *Il bacillus minimus mammae.* Rend. del R. Ist. Lomb. Sc. Lett. 40, 947, 1097.
- 11) — *Ricerche sui cocchi acidopresamigeni del formaggio (con figure).* Rend. R. Acc. Lincei, 19, 150, 1910.
- 12) — *L'importanza igienica dei batteri acidopresamigeni delle mammelle.* Comunic. VI Congresso Internazionale di Latteria, Berna, 1914.
- 13) — *Ulteriori ricerche sull'attività proteolitica dei fermenti lattici.* Rend. R. Acc. Lincei, 24, 369 e 470, 1915; 26, 195 e 223, 1917; 30, 312, 1921.

Medicazione

Disinfezione

Deodorazione

AMUCHINA

(Reg. Min. Int. 100/42)

Medicamento disinfettante istofilo ad uso umano

AMUCHINA "Z."

(Reg. Min. Int. 100/43)

Medicamento disinfettante istofilo ad uso veterinario

ANTISAPRIL

(Reg. Min. Int. 99/41)

Disinfettante deodorante grezzo

LISICERINA

(Reg. Min. Int. 424)

Disinfettante antiaftoso

"C. L.",

Per disinfezione e detersione delle bottiglie del latte

AMUCHINA Soc. p. Az.

Sede: GENOVA - Via B. Bosco, 37 - Telefono 55.37 - 53-723

Stabilimenti: SAMPIERDARENA - Via Pacinotti, 86 - Tel. 2.051

MILANO - Viale Umbria, 118 - Telefono 54-457

La razionale fabbricazione del formaggio esige che il caglio sia accuratamente controllato e con titolo costante.

A queste esigenze risponde

C. MOTTA & C. - MONZA

VIA CAIROLI 2a - TELEFONO 4613 - Casa Fond. nel 1926

Fabbrica monzese di caglio e coloranti per burro e formaggi.



FABBRICA PRODOTTI CHIMICI

Dott. V. SACCO

MILANO

VIA FILIPPO BALDINUCCI, 91 - TEL. 97-254

Il "Neomoscam", ideato presso l'Istituto Sperimentale di Letteria in Kiel, è l'UNICO prodotto che ha un potere DETERGENTE 3 volte superiore alla soda, unisce una attività BATTERICIDA 5 volte maggiore dell'acido fenico, offre una perfetta COMPATIBILITA' col latte e coi latticini, nonché una ASSOLUTA INNOCUITA' su metalli, legno e gomma.

Il "Neomoscam", brevettato in 19 paesi del mondo, ha dimostrato nella pratica industriale.



di realizzare la pulizia e la disinfezione dei recipienti e delle macchine con un'ECONOMIA del 50% sui vecchi sistemi, riducendo fortemente le spese di combustibile, mano d'opera, spazzole, ecc.



di contribuire in modo efficacissimo alla IGIENICITÀ del latte, al MIGLIORAMENTO dei prodotti caseari e alla buona MANUTENZIONE degli impianti.

- 14) — *Sulla presenza dei batteri acidoproteolitici nel suolo e sulla loro circolazione nella natura.* Rend. Ist. Lomb. Sc. Lett. 55, 415, 1922.
- 15) — *Sulla diffusione della proprietà acidopresamigena fra i batteri parassiti.* Rend. Ist. Lomb. Sc. Lett., 56, 994, 1923; 60, 664, 1927.
- 16) — *Sur les coccus mammaires.* C. R. Acad. Sciences, 29 dic. 1924.
- 17) — *Sur le Gastrococcus.* C. R. Acad. Sciences, 16 novembre 1925.
- 18) — *Sur les coccus mammaires (Mammococcu) et les coccus analogues (Caseococcus, Enterococcus, Gastrococcus).* Le Lait, 6, 81, 1926.
- 19) — *Ma théorie acidoprotéolytique sur la maturation des fromages.* Le Lait, 7, 36, 1927.
- 20) — *Sul metabolismo degli Acidoproteoliti.* Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett. 61, 55, 1928.
- 21) — *Influence de la vie saprophytique et parasitique sur la diffusion de la propriété acidoproteolytique che les bâcteries.* Le Lait, 8, 465, 1928.
- 22) — *I fermenti acidoproteolitici in conceria.* Rend. R. Acc. Lincei, 10, 309, 1929.
- 23) — *Sulle chimasi batteriche.* Atti acc. Pont. Sc. Nuovi Lincei, 83, 66, 1929.
- 24) — *Acidoproteoliti e termofili nella pastorizzazione del latte.* Rend. R. Acc. Lincei, 12, 591, 1930.
- 25) — *Sulle proteasi degli Acidoproteolitici.* Atti Acc. Pont. Sc. Nuovi Lincei, 85, 29, 1931.
- 26) — (In collaborazione con W. Grassmann e H. Schleich). *Ueber die Proteasen der Acidoproteolyten.* Zeits, Physiол. Chemie, 205, 133, 1932.
- 27) — *Les Acidoprotéolytes dans la science et dans la pratique.* (Volume Giubilare C. Poreher). Chambéry, 1932.
- 28) — *Un metodo per svelare la produzione chimasica presso i batteri.* (Latte su agar-cultura). Arch. Mikrobiologie, 4, 123, 1933.
- 29) — *Il metodo del latte su agar-cultura nelle ricerche delle attività chimasiche e proteasiche dei microrganismi.* Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett., 47, 787, 1934.
- 30) — *Gli Acidoproteoliti nella fermentazione gasosa associativa del latte.* Atti Acc. Pont. Nuovi Lincei, 87, 2, 1934.
- 31) — *Nuovi contributi al significato degli Acidoproteoliti nella maturazione del formaggio.* (Rend. X Congresso Mondiale di Latteria, Roma, 1934, Vol. 2°).
- 32) — *Gli Acidoproteoliti nelle infezioni mammarie.* (Ibidem, Vol. 6°).
- 33) — In collaborazione con Luigi Gorini). *Ulteriori ricerche sulle proteasi degli Acidoproteoliti.* Rend. R. Ist. Lomb. Sc. Lett., 18, 115, 1935.
- 34) — *Les protéases bactériennes.* Archives des Sc. Biol., 43, 87, 1936.
- 35) — *La marcia degli Acidoproteoliti.* Rend. X Congresso Mondiale di Latteria, Berlino, 1937, Vol. IV.
- 36) Gorbach G. - *Die Acidoproteolyten Gorini's.* Arch. Mikrobiol., 6, 362, 1935.

- 37) — Gorbach G. - *Das Protheasensystem der Acidoproteolyten Gorini's*. Enzymologia, 3, 65, 1947.
- 38) Grimmer W. e Fink E. - *Zur Kenntniss der Acidoproteolyten*. Milchw. Forsch., 15, 277, 1934.
- 39) Hucker G. J. - *Relationship of the various acidoproteolytic cocci*. Centralbl. Bakt. II, 76, 161, 1931.
- 40) Janoscheck - *Ueber den Eiweissabbau einiger Acidoproteolyten in der Milk*. Nota I. Milchw. Forsch., 2, 230, 1931.
- 41) Janoscheck - Nota II. Rend. X Congres. Mondiale Latteria. Roma, 1934, II Sez., N. 47.
- 42) Knowles N. R. - *A Study of the Bacterial Flora of Foremik and of Rennet Extract, with Special Reference to Acid-Proteolytic Types*. Journ. of Dairy Res., 7, 63, 1936.
- 43) Knowles N. R. - *Acid Production and Protein Degradation of some Acid-Proteolytic Cocci*. Jour. of Dairy Res., 7, 176, 1936.

Pervenuto in redazione il 15 Settembre 1947

| Ceppo in esame | Glicerina | Xilosid | Arabinosid | Ramnosid | Sorbit | Mannit | Levulosid | Glucosid | Mannosid | Galattosid | Saccarosid | Maltosid | Lattosid | Raffinosid | Inulina | Dextrina | Amido | Salicina | Riduzione di nitriti | Catalasi |
|----------------|-----------|---------|------------|----------|--------|--------|-----------|----------|----------|------------|------------|----------|----------|------------|---------|----------|-------|----------|----------------------|----------|
| MAMMOCOCCUS | 1 | 1.9 | 0.2 | 0.0 | 0.4 | 2.1 | 2.5 | 3.6 | 2.1 | 2.9 | 0.3 | 3.0 | 2.5 | 0.3 | 0.3 | 2.8 | 0.0 | 4.1 | - | - |
| » | 2 | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.0 | 4.6 | 2.0 | 2.5 | 2.8 | 3.9 | 2.5 | 0.2 | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.8 | + | + |
| » | 3 | 0.0 | 0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.5 | 0.0 | 3.9 | 1.9 | 2.8 | 3.6 | 4.1 | 2.8 | 0.0 | 0.2 | 0.4 | 0.1 | 0.2 | + | + |
| GASTROCOCCUS | 1 | 0.1 | 0.2 | 0.0 | 0.3 | 0.4 | 0.3 | 4.5 | 1.2 | 2.1 | 4.0 | 3.2 | 2.1 | 0.0 | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | + | + |
| » | 2 | 0.2 | 0.0 | 0.3 | 0.0 | 0.1 | 2.2 | 4.3 | 5.1 | 2.6 | 4.2 | 3.8 | 2.6 | 0.2 | 0.4 | 2.3 | 0.1 | 0.0 | + | + |
| ENTEROCOCCUS | 1 | 1.0 | 0.9 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.4 | 3.6 | 4.1 | 4.6 | 1.9 | 3.9 | 3.5 | 0.3 | 0.0 | 1.1 | 0.4 | 0.0 | + | + |
| » | 2 | 0.4 | 0.5 | 2.8 | 0.6 | 0.2 | 2.4 | 1.9 | 4.6 | 5.2 | 5.0 | 5.1 | 4.0 | 3.1 | 0.4 | 0.1 | 1.5 | 2.9 | - | - |
| » | 5 | 0.8 | 1.1 | 0.0 | 0.0 | 0.4 | 1.5 | 3.2 | 4.8 | 2.1 | 3.2 | 3.2 | 2.4 | 0.5 | 0.0 | 0.8 | 0.5 | 3.1 | + | + |
| CASEOCOCCUS | 1 | 2.2 | 0.7 | 2.1 | 0.4 | 2.1 | 1.6 | 2.4 | 3.9 | 4.0 | 2.8 | 4.1 | 4.5 | 1.5 | 0.1 | 1.8 | 0.3 | 2.5 | - | - |
| » | 4 | 2.0 | 0.0 | 0.0 | 0.2 | 2.5 | 2.9 | 3.1 | 2.4 | 3.4 | 0.5 | 3.6 | 2.2 | 0.3 | 0.5 | 3.2 | 0.0 | 3.5 | - | - |
| » | 5 | 0.9 | 1.5 | 0.2 | 0.8 | 0.6 | 2.3 | 4.8 | 4.1 | 0.2 | 4.1 | 2.7 | 2.9 | 0.4 | 0.2 | 1.2 | 0.6 | 3.4 | + | + |
| » | 6 | 0.1 | 0.0 | 0.0 | 0.4 | 0.6 | 0.2 | 3.9 | 1.4 | 2.6 | 4.2 | 3.8 | 2.8 | 0.1 | 0.0 | 0.3 | 0.4 | 0.3 | - | - |
| » | 7 | 0.7 | 1.6 | 1.5 | 0.2 | 0.0 | 1.5 | 4.4 | 5.3 | 3.6 | 3.1 | 4.2 | 3.6 | 0.3 | 0.0 | 2.2 | 0.1 | 0.0 | - | - |
| » | 8 | 0.5 | 0.5 | 2.1 | 0.0 | 0.2 | 3.2 | 5.6 | 5.4 | 0.0 | 2.2 | 5.1 | 4.6 | 0.6 | 0.1 | 1.8 | 0.5 | 0.2 | - | - |
| » | 9 | 0.5 | 1.0 | 0.8 | 1.2 | 0.1 | 3.1 | 3.8 | 5.2 | 3.9 | 3.8 | 3.2 | 3.2 | 0.4 | 0.0 | 1.2 | 0.5 | 3.1 | + | + |
| » | 10 | 0.0 | 0.5 | 2.0 | 0.2 | 0.0 | 1.4 | 4.5 | 5.1 | 4.1 | 1.0 | 2.1 | 3.9 | 3.5 | 1.2 | 1.2 | 0.2 | 2.6 | + | + |
| » | 11 | 0.2 | 0.1 | 1.8 | 0.4 | 2.1 | 2.1 | 4.2 | 5.2 | 2.2 | 3.6 | 2.7 | 3.4 | 0.6 | 0.0 | 0.8 | 0.4 | 2.8 | + | - |
| » | 18 | 0.1 | 0.3 | 2.2 | 0.1 | 0.0 | 1.8 | 3.5 | 4.2 | 2.1 | 0.9 | 2.5 | 3.1 | 2.6 | 2.1 | 2.3 | 0.1 | 3.1 | + | + |

Considerazioni e ricerche sulla fermentazione vinaria

Prof. I. Politi - Dott. V. Treccani (*)

NOTA I

La grandissima importanza dell'industria enologica nell'economia italiana richiama l'attenzione su tutto un complesso di problemi diretti al progresso dell'industria medesima. Così, accanto ai perfezionamenti fondati sulle nozioni scientifiche già acquisite, e perciò di ordine essenzialmente applicativo, si hanno problemi la cui soluzione non sembra possa essere perseguita se non attraverso una più approfondita conoscenza delle trasformazioni cui soggiace il mosto nel corso del processo fermentativo ed il vino nelle successive fasi di maturazione e di invecchiamento. Del resto è ben noto come, allo stato attuale della tecnica, anche i procedimenti più razionali non sempre consentono di ottenere dei vini esenti da difetti; tant'è vero che gli enotecnici spesso devono ricorrere a trattamenti artificiali che, se pur consentono di eliminare i difetti medesimi, sovente non giovano alla qualità del prodotto.

Pertanto, i perfezionamenti enologici in genere, le cui finalità ultime si possono riassumere nel costante ottenimento di vini limpidi, stabili e serbevoli, dotati dei migliori caratteri di gusto e di profumo e, eventualmente, suscettibili della più pronta maturazione e del più rapido invecchiamento, devono ispirarsi al principio della maggior valorizzazione della materia prima con mezzi il meno possibile artificiali, in guisa da mantenere il più possibile integre talune caratteristiche di origine e perciò soprattutto indirizzando nel senso più favorevole le trasformazioni fermentative.

Da queste rapide considerazioni emerge l'importanza di più precise, approfondite e coordinate conoscenze scientifiche intorno a fenomeni di varia natura, particolarmente:

- intorno alle trasformazioni cui soggiacciono le sostanze colloidali dei mosti e dei vini, per quanto concerne la stabilità fisico-chimica di questi ultimi;
- intorno alle condizioni chimiche e fisico-chimiche atte a condizionare lo sviluppo microbico nel vino, ai fini della inalterabilità dello stesso;

(*) L'impostazione e redazione di questa memoria è opera del Prof. I. Politi. All'esecuzione delle ricerche hanno collaborato entrambi gli autori.

- Intorno ai processi cui è dovuta la formazione di principii aromatici nel corso della fermentazione;
- Intorno ai fenomeni cui sono dovute le successive modificazioni del gusto e del profumo del vino.

Molteplici rapporti di concomitanza, interdipendenza e conseguenza regolano in realtà lo svolgimento di tutti questi fenomeni, legati altresì, variamente, al processo fermentativo principale; e perciò risultati molto interessanti sono da attendersi da ricerche dirette a chiarire non solo il chimismo dei singoli fenomeni ma anche e specialmente detti rapporti.

Sulle sostanze colloidali in rapporto ai fenomeni di chiarificazione e di intorbidamento dei vini

Com'è noto, la torbidità naturale dei mosti è dovuta a diverse sostanze colloidali che a seguito di molteplici reazioni di varia natura soggiacciono a insolubilizzazione e precipitazione. Ne deriva che, cessato il moto fermentativo, il vino subisce una progressiva chiarificazione, la quale risulta completa o non dopo un intervallo di tempo più o meno lungo. Si hanno cioè dei vini che arrivano più o meno precocemente alla limpidezza e dei vini che permangono lungamente torbidi o velati. Ma si hanno anche dei vini che, dopo aver raggiunto un notevole grado di limpidezza, soggiacciono, specialmente a seguito di processi ossidativi, a intorbidamenti e precipitazioni che vengono indicati col termine generico di « casse ».

Fra la imperfetta chiarificazione spontanea, che viene considerata come un difetto d'origine, e codeste alterazioni della limpidezza e del colore viene quindi posta una distinzione che muove esclusivamente da caratteri e da manifestazioni esteriori. Tuttavia, il diverso comportamento dei vini, dal punto di vista considerato, non sembra attribuibile a fenomeni nettamente distinti ed indipendenti, ma piuttosto a differenti esiti e quindi a differenti manifestazioni di un nucleo comune di reazioni, in conseguenza della variabilità di composizione dei mosti e dei vini e delle condizioni fermentative.

Occorre in proposito tenere presente che la chiarificazione naturale non è soltanto la conseguenza di puri processi fisici di sedimentazione, ma anche ed in primo luogo l'esito di reazioni fisico-chimiche e soprattutto biochimiche, le quali modificano lo stato di aggregazione di talune sostanze colloidali che altrimenti non sarebbero atte a separarsi per semplici fenomeni gravitazionali. È d'uopo inoltre tenere presente che nei complessi e mutevoli fenomeni di intorbidamento dei vini già divenuti limpidi si ha senza dubbio la partecipazione di colloidali organici.

Infatti, sin dal 1907 il Laborde ebbe ad affermare che il ferro non è l'elemento più importante che entri nella costituzione del precipitato della *casse bianca*, in cui le materie organiche sono quelle che in generale prevalgono, insieme ad una notevole quantità di acido fosforico e di calcio. Anche senza attribuire valore assoluto a codesta affermazione, sta di fatto che le sostanze organiche sono sempre presenti nei precipitati e quindi partecipano ai fenomeni di *casse*; oltre il tannino si presume abbiano molta importanza le

sostanze proteiche, tant'è vero che molti vini contenenti rilevanti quantità delle medesime sono soggetti a intorbidamenti anche con lievi contenuti di ferro. D'altra parte è nota la funzione stabilizzatrice di taluni colloidali organici, come ad esempio la gomma arabica che, conforme alle indicazioni del Ribéreau-Gayon, può essere aggiunta al vino in piccole quantità come rimedio anti-*cassee*.

Per quanto precede, una razionale soluzione del complesso problema della limpidezza e stabilità fisico-chimica dei vini presuppone una sempre più vasta conoscenza dei componenti colloidali dei mosti e delle reazioni, non solo fisico-chimiche ma anche biochimiche, cui essi sono soggetti.

Le sostanze colloidali contenute nel mosto d'uva e nei succhi di frutta in genere comprendono protidi e composti azotati ad alto peso molecolare, glucosidi (tannino), polisaccaridi (emicellulose, gomme), poliuronidi (acido pectico) e colloidali minerali. Alcune di queste sostanze sono presenti allo stato di vere e proprie soluzioni colloidali; altre invece allo stato di sospensione. Però una distinzione in questo senso ha un valore molto relativo, per il fatto che azioni reciproche e legami di varia natura vincolano i colloidali presenti nello stesso mezzo in complessi; di modo che il comportamento fisico-chimico di ciascun componente viene ad essere profondamente modificato (fenomeni di protezione, di adsorbimento ecc.) nel mentre qualsiasi, processo, di scomposizione o d'altra natura, a carico di un dato componente viene a modificare lo stato di equilibrio del sistema e può quindi determinare dei fenomeni di flocculazione e di precipitazione.

Ciò effettivamente si verifica, nel corso della vinificazione e nei tempi successivi, in quanto talune sostanze colloidali soggiacciono a trasformazioni idrolitiche, catalizzate da piccole quantità di enzimi, costitutivi dei mosti stessi o di origine microbica. A codeste reazioni compete anzi una grande importanza, tant'è vero che ad esse è per buona parte dovuta la chiarificazione naturale dei succhi di frutta in genere e dei mosti e vini in particolare.

Infatti, è ormai a tutti noto che tale chiarificazione avviene specialmente a seguito dell'azione di enzimi che agiscono sulle sostanze pectiche: della pectasi, la quale demetossilando l'acido pectico ne determina la coagulazione sotto forma di pectato di calcio e della pectolasi che, idrolizzando i poliuronidi pectici, rende possibile la flocculazione delle altre sostanze intorbidanti. Su questi fenomeni è del resto fondato l'impiego di preparati enzimatici ad azione pectolitica nella preparazione industriale dei succhi di frutta.

Altre reazioni enzimatiche di non trascurabile interesse enologico sono quelle a carico delle sostanze proteiche. Si sa infatti che il mosto di uva contiene piccole quantità di proteasi e che piccole quantità di analoghi enzimi sono prodotte anche dai fermenti alcolici. Analogamente è verosimile ammettere la presenza, almeno in tracce, di enzimi attivi sugli altri componenti colloidali dei mosti (tannasi, polisaccaridasi, ecc.)

Le ricerche da noi condotte sui processi di chiarificazione enzimatica dei succhi di frutta hanno consentito alcune interessanti osservazioni relativamente all'influenza esplicata dalle sostanze proteiche nei fenomeni di flocculazione che conseguono alla reazione pectolitica. Dalle esperienze di cui segue l'esposizione emerge infatti che le sostanze proteiche partecipano alla flocculazione, in quanto precipitano assieme alle sostanze intorbidanti, ed esplicano anzi una funzione determinante.

Una soluzione di pectina tecnica (venne impiegata la pectina PPP 280 della S. A. Unipectina di Milano) al 4 per mille, opalescente, viene addizionata di pectolasi e di quantità di gelatina crescenti da 0 a 0,5 per mille. Si attende e si osserva la chiarificazione. Questa si compie in tempi diversi, ossia è tanto meno rapida quanto minore è la quantità di gelatina addizionata. Il fenomeno può essere rappresentato schematicamente dal diagr. I, donde si rileva che senza alcuna aggiunta di gelatina la flocculazione avviene in un tempo relativamente molto lungo. Tenendo presente che i preparati enzimatici contengono sempre piccole quantità di proteine è agevole comprendere come in completa assenza di queste sostanze la flocculazione possa non aver luogo. Infatti, ripetendo l'esperienza nelle stesse condizioni, ma con diversi preparati enzimatici, si è potuto accertare che con alcuni di essi, nonostante la reazione pectolica fosse completa, la flocculazione non avveniva nemmeno dopo diversi giorni.

Si deduce quindi che la presenza di proteine è condizione pressochè indispensabile perchè la flocculazione delle sostanze intorbidanti legate al colloide pectico possa aver luogo. Dalla stessa esperienza si deduce inoltre che la flocculazione avviene in istadi di più o meno avanzata demolizione pectica a seconda della quantità delle proteine presenti.

Filtrando i liquidi appena completata la flocculazione ed aggiungendo della soluzione tannica in eccesso, si è potuto constatare che indipendentemente dalla quantità aggiunta la gelatina non era più presente se non in tracce. Ciò sta a dimostrare che la gelatina determina la chiarificazione in quanto si combina dapprima con il complesso pectico e, restando legata al prodotti d'idrolisi, precipita con questi.

Viceversa, se al liquido, filtrato come sopra e perfettamente limpido, si aggiunge dell'altra gelatina, si ha un immediato intorbidamento che sta ad indicare che i prodotti solubili dell'idrolisi sono ancora dotati di proprietà colloidali, proprietà che si vanno perdendo via via che la reazione procede.

Si perviene così a due importanti conclusioni:

- le sostanze proteiche costituiscono un fattore determinante la flocculazione e precipitano assieme alle sostanze intorbidanti;
- la flocculazione e la chiarificazione avvengono essenzialmente in funzione della perdita di potere protettore da parte del colloide pectico soggetto a progressiva demolizione idrolitica.

Le proteine flocculate con il processo di chiarificazione qui sopra considerato sono suscettibili di ridissoluzione, almeno parziale, a seguito di un'ulteriore degradazione idrolitica delle sostanze colloidali cui si era legata.

Infatti se una soluzione pectica al 4-5 per mille viene trattata con pectolasi, come nelle esperienze esposte in precedenza, è agevole constatare come detto processo effettivamente abbia luogo.

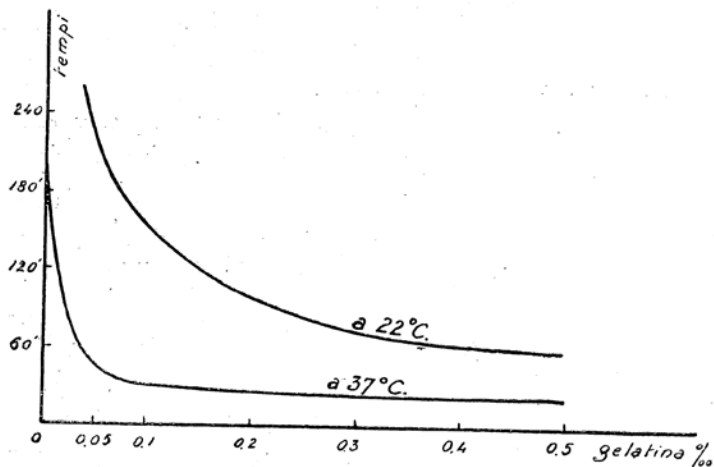


DIAGRAMMA I.

Alle stesse conclusioni emerse dalle esperienze su semplici soluzioni pectiche, si è pervenuti anche attraverso prove di chiarificazione di succhi di mele e di mosti di uva. Pertanto, operando ancora con soluzioni pectiche si è pensato di controllare l'influenza esplicata sul processo di chiarificazione da alcune sostanze ben note per la loro partecipazione agli intorbidamenti dei vini: sali ferrici, fosfati e citrati. Dalle prove preliminari all'uopo effettuate è emerso che tutte queste sostanze effettivamente esplicano una netta influenza che è sempre diretta a rallentare o ad ostacolare la flocculazione. Specialmente notevole è risultata l'influenza della duplice presenza di ioni ferrici e fosforici, il che si accorda sia con l'osservazione che il ferro impedisce la pronta chiarificazione enzimatica dei succhi di frutta e dei mosti, sia anche con il fatto che ferro e acido fosforico rappresentano i due più importanti fattori della *casse bianca*. Ulteriori indagini potranno chiarire meglio l'interessante argomento, particolarmente dal punto di vista della chiarificazione e della stabilizzazione dei vini contenenti un eccesso di ferro.

I due fenomeni della precipitazione e della ridissoluzione delle sostanze proteiche, entrambi per azione degli enzimi pectolitici, presenta un'importanza speciale dal punto di vista enologico, sia perchè le sostanze medesime interessano la nutrizione azotata dei lieviti e la conseguente formazione di sostanze « antogene », sia in vista della possibilità di impiego di adatti enzimi come bio-regolatori delle trasformazioni colloidali nel processo di vinificazione.

Infatti, come già si è accennato, diverse prove di chiarificazione di mosti d'uva, a mezzo di enzimi pectolitici, hanno consentito di accertare che con il processo medesimo si ottiene effettivamente una non trascurabile precipita-

zione di sostanze proteiche. Si è osservato inoltre che i mosti d'uva generalmente contengono quantità di proteine più che sufficienti per determinare una rapida e perfetta chiarificazione; tant'è vero che i liquidi limpidissimi ottenuti per successiva decantazione o filtrazione presentano un contenuto residuale delle sostanze medesime che può essere agevolmente constatato mediante aggiunta di tannino o per riscaldamento oltre i 60°C.

Valgono in proposito i seguenti dati analitici:

| | 1 | 2 |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|
| Azoto totale del mosto integro | 0.341 per mille | 0.282 per mille |
| » » dopo chiarificazione | 0.314 per mille | 0.258 per mille |
| » » » » e precipitazione a caldo | 0,304 per mille | 0.252 per mille |

Per quanto precede il trattamento dei mosti con enzimi pectolitici consente di effettuare senza difficoltà una completa e perfetta defecazione preventiva dei mosti: per semplice decantazione, per centrifugazione o addirittura per filtrazione; e con ciò una depurazione microbiologica, che può arrivare alla completa sterilizzazione, ed anche una parziale deproteinizzazione che può essere vantaggiosa in taluni processi di vinificazione (specialmente nei paesi caldi e nella preparazione di vini dolci).

Per contro la semplice aggiunta di enzimi pectolitici ai mosti prima della fermentazione, senza eliminazione dei materiali fecciosi, non altera il contenuto azotato dei mosti stessi e nemmeno l'accessibilità delle proteine alla flora saccaromicetica. È verosimile anzi pensare che con la rapida idrolisi dei colloidi pectici e attraverso la singolare « dislocazione » delle sostanze proteiche, precedentemente posta in luce, si possa addivenire a vini maggiormente deproteinizzati. I vantaggi conseguenti a codesto fenomeno appaiono quindi di non poco conto, se si tiene presente che una più radicale eliminazione delle sostanze proteiche è ben giovevole sia dal punto di vista della serbevolezza dei vini, sia da quello della loro stabilità fisico-chimica. E difatti alcune prove di vinificazione comparativa, sembrano convalidare queste induzioni e però una più ampia sperimentazione al riguardo verrà condotta nella prossima vendemmia.

Sul miglioramento dei caratteri organolettici dei vini

Come è noto le caratteristiche di gusto e di profumo dei vini dipendono sia dalla materia prima (sostanze odoranti contenute nell'uva e sostanze cosiddette *antogene*), sia anche dall'esito di molteplici fenomeni legati al processo fermentativo fondamentale o successivi a questo.

Così pure si sa come, regolando in vario modo le condizioni fermentative, si possa pervenire a risultati sensibilmente diversi. La tecnica enologica si vale infatti di vari mezzi ai fini dell'ottenimento di prodotti aventi i migliori caratteri di gusto e di profumo; così si ricorre a mezzi fisici, come il controllo delle condizioni termiche, a mezzi chimici, come le correzioni dei mosti e l'appropriato impiego dell'anidride solforosa, a mezzi microbiologici, come l'innesto di fermenti selezionati aventi particolari caratteristiche fisiologiche.

Un nuovo orientamento è segnato dal concetto di regolare la fermentazione mediante fattori biochimici, ossia mediante principi di natura enzimatica ed auxinica, ed a tale concetto si è ispirata una serie di ricerche che consentirono la messa a punto di un nuovo preparato ad uso enologico, del quale un laboratorio milanese ha iniziato sin dallo scorso anno la produzione industriale. Codesto preparato, messo in commercio sotto il nome di Biozim e definito come regolatore biologico della fermentazione vinaria, esplicherebbe un complesso di attività enzimatiche e di influenze di altra natura cui conseguirebbe un sensibile miglioramento dei caratteri organolettici dei vini, specialmente se derivanti da uve mediocri o scadenti.

Si espongono qui i risultati delle ricerche di laboratorio compiute sull'argomento.

Attività enzimatiche del Biozim

Delle attività enzimatiche fu oggetto di precisazione il potere pectolitico che venne controllato dapprima su semplici soluzioni di pectina tecnica e quindi su mosti e su succhi di frutta di diversa natura. Le prove su soluzioni di pectina vennero effettuate mediante misure viscosimetriche e mediante determinazione del potere riduttore:

a) gr. 10 di Biozim vengono trattati con 250 cc. di acqua distillata; si filtra e si prelevano cc. 2,5 in palloncino tarato da 50 cc. Si aggiungono 5 cc. di soluzione tampone (acido citrico, fosfato bisodico secondo Mc. Ilvaine) a pH= 3,5 e 1 cc. di soluzione di gelatina al 5%. Si porta a volume, si agita e si prelevano in provetta circa 10 cc. che si portano a 37° C. in bagno d'Ostwald. In un'altra provetta si pipettano esattamente 5 cc. di soluzione pectica all'1% che pure si portano a 37°C. Alla soluzione pectica si aggiungono rapidamente 5 cc. della soluzione enzimatica (tempo 0); si agita e si prelevano cc. 2,5 che si introducono in un viscosimetro di Ostwald pure mantenuto a 37° C. Dopo 10', 20', 30' si misura la viscosità. Con una prova in bianco si determina il dato iniziale (viscosità al tempo 0).

Risultati ottenuti con tre campioni diversi di Biozim:

| | | | |
|--|------------------|--------|---------------|
| | 0 | | 102'' |
| | 10' | 65'' | 62.4'' 63.8'' |
| | 20' | 53.2'' | 52'' 52.6'' |
| | 30' | 49'' | 48'' 48.4'' |
| | H ₂ O | | 46'' |

b) gr. 10 di Biozim vengono trattati con 250 cc. di H₂O; si filtra e si prelevano cc. 10 in un matraccio tarato da cc. 250. Si aggiungono cc. 100

di pectina all'1% e cc. 2,5 di gelatina al 5%; si porta a volume, si agita e si pone in bagno d'Ostwald a 37°C. In tempi successivi si prelevano cc. 20 di liquido; si introducono in un palloncino da cc. 25, si aggiungono 2 cc. di Cu SO₄ al 4%, si porta a volume, si agita e si filtra. Su cc. 20 si determina il potere riduttore con il metodo Fehling-Bertrand e si esprime il risultato come glucosio (I).

Risultati di due controlli:

| I | | II | |
|--------|--------|----------|--------|
| ore 1 | 0,45 ‰ | ore 1,30 | 0,57 ‰ |
| » 2 | 0,89 ‰ | » 3,00 | 1,03 ‰ |
| » 4 | 1,41 ‰ | » 4,30 | 1,39 ‰ |
| » 7,30 | 1,76 ‰ | | |
| » 24 | 2,40 ‰ | | |

L'alto potere pectolitico e chiarificante del Biozim è stato controllato anche mediante succhi di frutta e mosti d'uva, i quali trattati nella proporzione del 0,5‰ (50 gr. per hl) soggiacciono a completa chiarificazione già dopo poche ore. (Per i succhi di frutta, eventualmente con l'aggiunta di piccole dosi di gelatina).

Attività auxinica.

L'attività auxinica del preparato, vale a dire il potere di stimolare il metabolismo dei lieviti, venne controllato mediante prove di fermentazione comparativa. In una prima esperienza si è operato con del mosto concentrato di uve rosse del modenese diluito al 20% circa di zucchero, pastorizzato a 65°C. per 30'; innestato con fermenti puri e distribuito in ragione di 1000 cc. in tre palloni muniti di valvola ad acido solforico. In due di essi venne addizionato il Biozim nella proporzione del 0,5 e dell'1‰. Il decorso della fermentazione venne seguito mediante pesate successive. I dati sono riprodotti dal diagr. 2.

Altre esperienze vennero effettuate su mosti freschi, addizionati di metabisolfito potassico in ragione del 0,3‰ e di fermenti puri; come sopra, distribuiti in palloni muniti di valvola ad acido solforico, senza e con aggiunte di Biozim nella proporzione del 0,5‰ e mantenuti a 25° C. in termostato.

Vennero impiegati tre mosti diversi, ottenuti rispettivamente da un'uva rossa (A) e da due uve bianche da tavola (B e C).

1) Questo metodo non è rigoroso per il fatto che il potere riduttore è dato da sostanze (acidi poliuronici) a peso molecolare via via decrescente ai termini ultimi, rappresentati da acido galatturonico e da una certa frazione di glucidi semplici.

L'andamento della fermentazione è riprodotto dai diagr. 3, 4 e 5.

L'effetto stimolante del Biozim appare evidente dai diagr. 2 e 4, ossia nelle due fermentazioni a decorso più lento. Nelle altre due esperienze a decorso più rapido, sebbene ritardato di alcuni giorni dalla solfitazione, appare invece di maggior rilievo il più pronto inizio del processo. Poiché l'aggiunta del preparato comporta un trascurabile apporto di azoto (non superiore al 2-2,5-10=⁶) l'effetto di attivazione constatato appare come un'influenza di natura auxinica. Nulla però autorizza ad affermare con certezza che il preparato contenga effettivamente delle sostanze auxiniche o se la sua azione sia piuttosto la conseguenza di attività enzimatiche o d'altra natura. Peraltro, in attesa che il quesito possa essere convenientemente chiarito, sembra egualmente lecito parlare di attività auxinica, almeno nel senso generico di potere stimolante sulla fermentazione.

Altre influenze sui caratteri del vino.

I vini ottenuti con i mosti freschi delle prove sopraesposte furono oggetto di osservazioni dirette a rilevare altre eventuali influenze esplicate dal Biozim. A tal scopo, terminata la fermentazione, i liquidi vennero sommarientemente decantati e quindi mantenuti in ghiacciaia per 8-10 giorni per la separazione del cremor-tartaro, del lievito di fermentazione e delle sostanze intorbidanti. Essi vennero quindi decantati con cura e posti in piccole bottiglie che vennero chiuse con tappo di sughero e conservate per alcuni mesi a temperatura ambiente (circa 15° C.).

Tutti e tre i vini fermentati in presenza di Biozim erano perfettamente limpidi sin dall'inizio della conservazione e tali si mantennero in seguito, dando origine solo ad un esiguissimo sedimento costituito da cellule di lievito e da pochissimo materiale amorfo (che è stato interpretato come derivante dalle più minute particelle che non erano sedimentate nel breve periodo di chiarificazione, oppure che si erano staccate dal fondo nell'operazione di travaso).

Dei vini ottenuti per fermentazione semplice, l'A d'uva rossa ed il C d'uva bianca erano limpidi sebbene un po' meno dei precedenti. Il vino B era invece opalescente.

Nei tempi successivi dal vino A si ebbe un precipitato a grossi fiocchi; il C diede un modesto deposito pulvirulento ed il B, chiarificandosi via via, ma senza divenire brillante nemmeno dopo 4 mesi, un notevole deposito pulvirulento.

Per quanto concerne il colore, trascurabile apparve l'influenza del Biozim sui due vini bianchi; essa apparve invece ben evidente sul rosato che per effetto del trattamento ebbe a presentare una colorazione che lo faceva apparire decisamente invecchiato rispetto al controllo.

I vini di questa esperienza in vitro furono infine oggetto di assaggio. Tenuto anche conto della natura impropria delle uve impiegate, l'eventuale influenza esplicata dal Biozim sui caratteri di gusto e di profumo poteva non emergere con chiarezza. Viceversa essa apparve palese per un più netto e gradevole profumo, per una più decisa e precoce armonizzazione dei carat-

teri gustativi e particolarmente nel senso di una anticipata maturazione dei vini trattati rispetto ai controlli.

Sembra lecito quindi affermare che il Biozim è atto ad influire vantaggiosamente sui caratteri di limpidezza e stabilità dei vini ed, almeno in molti casi, anche sui caratteri rilevabili con la degustazione. In particolare esso sembra atto a predisporre i vini ad una rapida maturazione.

In attesa che le applicazioni su scala industriale possano fornire risultati ed elementi che consentano di inquadrare al meglio i fenomeni osservati, precisandone altresì la portata dal punto di vista tecnologico, si è ritenuto utile avviare delle indagini al fine di chiarire i fenomeni medesimi nei riguardi del loro intimo svolgimento.

Le influenze esplicate dal Biozim sui caratteri di gusto e di profumo dei vini potrebbero essere dovute ad azioni diverse:

- alle attività enzimatiche a carico delle sostanze colloidali e particolarmente alla « dislocazione » delle proteine conseguente all'idrolisi pectica ed alla natura antogena delle stesse;
- alle influenze auxiniche di cui si è detto più sopra;
- infine a influenze ossido-riduttive, connesse a speciali trasportatori di idrogeno (o di ossigeno) contenuti nel preparato.

Non si può escludere, anzi è verosimile ammettere il concorso di azioni diverse. E però le ricerche in corso hanno già dimostrato chiaramente che una netta influenza viene esplicata dal Biozim anche al di fuori di qualsiasi azione idrolitica.

Pertanto l'indagine presenta un alto interesse poiché richiama l'attenzione su fenomeni determinati o regolati da speciali principii, come i fattori auxinici ed i trasportatori di idrogeno (o d'ossigeno) che, non ancora studiati in rapporto alla fermentazione vinaria, si sono rivelati di grande importanza, per la singolare funzione esplicata nell'intimo meccanismo delle reazioni fermentative.

Sulla defecazione enzimatica preventiva dei mosti

Parallelamente alle prove di fermentazione precedentemente esposte e con gli stessi tre mosti, vennero effettuate delle prove di vinificazione con defecazione preventiva.

A 1100 cc. di mosto vennero aggiunti gr. 0,3 di metabisolfito potassico e gr. 0,550 di Biozim, rimescolando quindi accuratamente. Dopo 15 ore, i mosti perfettamente chiarificati (la chiarificazione nonostante la bassa temperatura —10-12° C. — era però completa già dopo 4-5 ore), vennero filtrati per carta, ottenendosi così dei liquidi limpidissimi. 1000cc. vennero introdotti in un matraccio munito di valvola ad acido solforico, innestati con fermenti puri e mantenuti in termostato a 25° C.

Il decorso delle fermentazioni è rappresentato dai diagr. 3, 4, 5 dai quali si rileva agevolmente che la defecazione esplicò un accentuato effetto deprimente. Infatti, solo il mosto C di basso contenuto zuccherino (14,1%) subì una fermentazione completa.

Codesto effetto deprimente è senz'altro da attribuire, conforme alle ben note ricerche di Mensio, all'impoverimento proteico determinato dalla eliminazione delle sostanze fecciose. Perciò la defecazione preventiva a mezzo del preparato Biozim appare di grande interesse dal momento che il trattamento medesimo risulta di assai agevole attuazione pratica, perchè i mosti possono essere perfettamente chiarificati in un breve intervallo di tempo, sia per decantazione, sia per centrifugazione o per filtrazione. I vantaggi che ne deriverebbero sono diversi. Infatti:

- i mosti così ottenuti risultano alquanto depurati anche dal punto di vista microbiologico, potendosi pervenire senza soverchia difficoltà persino alla completa sterilizzazione a mezzo degli adatti filtri che l'industria ha già realizzato;
- i mosti così depurati possono essere fatti fermentare con lieviti puri, senza che siano necessari degli innesti massivi, come è di norma necessario nelle consuete vinificazioni per essere sicuri che i lieviti aggiunti abbiano a presiedere in modo prevalente al processo fermentativo;
- i mosti previamente defecati si prestano meglio alla preparazione di vini dolci in quanto la fermentazione può essere più facilmente arrestata prima del totale esaurimento dello zucchero; per contro, volendo portare a termine il processo, basterà una piccola addizione di sali ammoniaci;
- per le ragioni anzidette la defecazione enzimatica preventiva può essere vantaggiosamente applicata nei paesi caldi, al fine di regolare il decorso della fermentazione ed evitare i temuti pericoli dell'agro-dolce;
- la defecazione preventiva, allontanando dal mosto una frazione proteica giova indubbiamente alla serbevolezza dei vini specialmente nel caso di uve che di tali sostanze siano ricche. Essa inoltre è atta ad assicurare una maggior stabilità fisico-chimica;
- con la defecazione preventiva si realizzano infine non trascurabili vantaggi pratici in quanto il problema della utilizzazione delle fecce risulta di più agevole soluzione. È evidente infatti che i materiali fecciosi flocculati per azione enzimatica sono ben più facilmente trattabili con i vari mezzi all'uopo impiegati nell'industria che non le fecce che si separano dopo la fermentazione, le quali comprendono anche il lievito e non trascurabili quantità di sostanze colloidali derivanti per autolisi dello stesso.

RIASSUNTO

Premesse alcune considerazioni relativamente ai perfezionamenti della tecnica enologica, ai fini del miglioramento dei caratteri organolettici, della stabilità e della serbevolezza dei vini, vengono esposti i risultati di alcune ricerche sulle reazioni enzimatiche e colloidali che conducono alla chiarificazione dei mosti e dei vini stessi.

Altre ricerche concernono un nuovo preparato biochimico ad uso enologico, del quale vennero rilevate le attività enzimatiche sulle sostanze colloidali ed altre complesse influenze sul decorso della fermentazione e sui caratteri organolettici dei vini.

Altre ricerche infine concernono la defecazione preventiva dei mosti e l'influenza sull'andamento della successiva fermentazione.

Il complesso delle ricerche effettuate sta ad indicare notevoli possibilità di perfezionamento della tecnica enologica, secondo un nuovo orientamento fondato sull'impiego di preparati agenti come bioregolatori delle molteplici trasformazioni fermentative della vinificazione.

SUMMARY

After some discussions on the subject of improvement in the technique of making wine especially as regards an improvement in the stability and flavour of wines, a report was made on the result of research work on the enzymatic and colloidal reactions which bring about a lightening of the colour of both the new wine and the seasoned wine itself.

Other research work carried out deals with a new biochemical preparation for use in the making of wines and a report is given on the enzymatic activities of this preparation on colloidal substances and its further influence during the process of fermentation of the wines, including its influence on the flavour of the latter.

Further research was carried out on preparatory purification of must and the influence of this process on the successive fermentation.

The results obtained from the experiments carried out, indicate considerable possibilities as regards improvement in the wine making technique, where this new idea of employing substances as bio-regulators of the numerous changes involved in the process of wine fermentation, is used as a starting point.

Pervenuta in redazione il 15 giugno 1948.

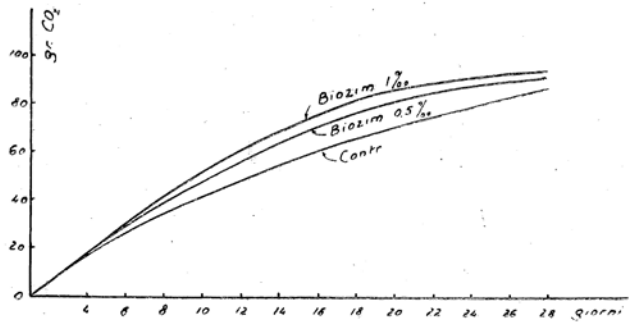


DIAGRAMMA 2.

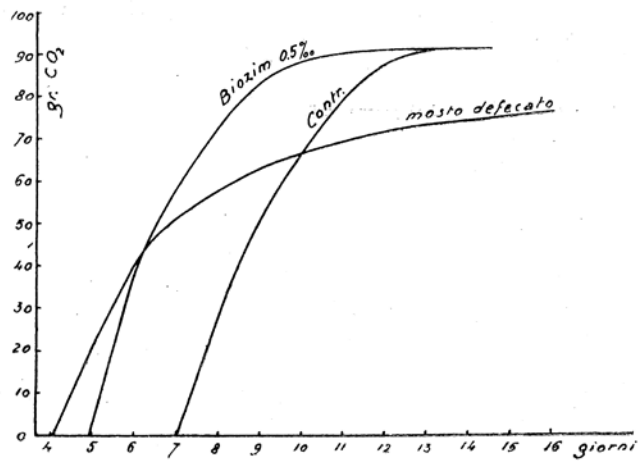


DIAGRAMMA 3.

**C O N S O R Z I O
P R O D U T T O R I
L A T T E DI M I L A N O**

primo esempio di un organismo volontario sorto in Italia per incrementare la produzione lattiera e per attuare norme e direttive tecniche-igieniche nei rapporti del problema del "buon latte,, da destinarsi ai rifornimenti dei maggiori centri urbani.

*Soltanto un macchinario moderno
consente una lavorazione razionale*

BRAP

- Impianti completi per tutte le lavorazioni del latte.
- Elettropompe Triumphator
- Serematrici Triumphator
- Tele ritorte Morgenthaler
- Tele industriali

BRAP - Corso Milano 12a - Tel. 4019 - MONZA

CENTRO SPERIMENTALE DEL LATTE



- Fermenti selezionati per tutti i formaggi tipici
- Culture acidificanti ed aromatizzanti per burro
- Tutte le analisi microbiologiche e chimiche del latte e dei latticini
- Muffe selezionate per gorgonzola
- Consulenze tecniche scientifiche per l'industria lattiero casearia

MILANO - PARCO RAVIZZA - VIA SALASCO, 4 - TEL. 51.208 - 50.715

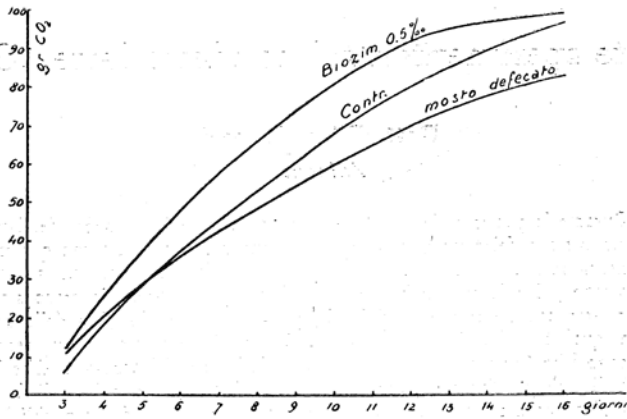


DIAGRAMMA 4.

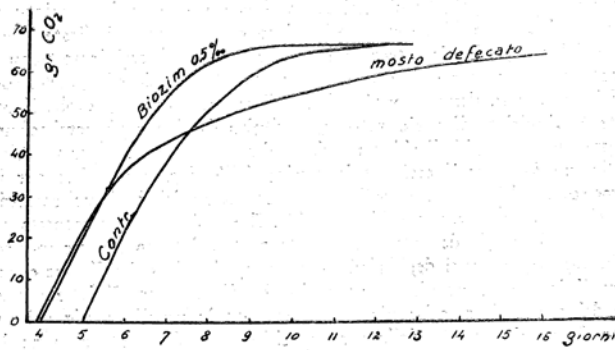


DIAGRAMMA 5.

Note sperimentali sul cosiddetto latte «O»

Dott. Elisa Corberi

Assistente

Durante la guerra si fece in Milano un esperimento di bonifica del latte con un metodo del tutto nuovo o per lo meno non mai usato con qualche larghezza fino ad allora, sia all'estero che in Italia. Ci riferiamo al così detto latte «O» la cui produzione e vendita in via provvisoria erano state autorizzate con Decreto Prefettizio del 30 maggio 1941 in vista delle sue buone qualità risultanti da numerose esperienze e dal giudizio di competenti. Il nostro laboratorio se ne interessò subito e nel corso del 1941-1942 ebbe la possibilità di esaminare un numero non indifferente di campioni di latte trattato con quel metodo: solo ora si ha l'occasione di renderne pubblici i risultati. Il metodo era stato ideato originariamente dal Hofius (1928), più tardi modificato dal Richter (1936) ed applicato in Milano secondo uno speciale brevetto Crespi. L'Hofius si serviva della ossigenazione cui poi il Richter aggiunse l'azione della temperatura (55°); il Crespi predispose un'apparecchiatura capace di sopportare alte pressioni, riscaldabile al grado voluto e munita di un agitatore che ovviasse ad alcuni inconvenienti che si verificavano nelle operazioni compiute con altri apparecchi. Non risulta dalla letteratura a nostra disposizione che nè il metodo dell'Hofius nè quello del Richter avessero potuto ottenere un'applicazione pratica estesa fuori dei laboratori in cui erano studiati, come toccò invece al metodo nella particolare forma in cui lo sistemò il Crespi. Col dispositivo Crespi tutta l'operazione si svolgeva negli apparecchi e con le fasi qui sotto rapidamente indicate. L'essenziale dal punto di vista tecnico è rappresentato dal recipiente Crespi, recipiente metallico capace di resistere a 10 atmosfere, a doppia parete, con superficie interna smaltata e munito di un diaframma forato girevole. Il recipiente è cilindrico, di vario volume, costituito da due metà combacianti a perfetta tenuta con viti di chiusura adatte; dispone di un foro per il carico del latte, un foro per il carico e lo scarico dell'ossigeno; un altro per il termometro; un ultimo ancora per il manometro. La camicia ha i suoi raccordi per la circolazione di acqua calda e fredda. Il recipiente viene montato su un cavalletto in modo da poter essere fatto ruotare intorno all'asse trasversale. Furono poi preparati degli altri recipienti speciali in cui collocare e trasportare il latte sotto pressione fino ai luoghi di consumo. Il latte proveniente dal centro di raccolta viene travasato con le usuali cautele nel recipiente Crespi fino a 4/5 della sua capacità: successivamente si porta la temperatura a 55° ed a questo punto si introduce ossigeno fino a 10 atmosfere.

Questo ossigeno viene, dopo alcuni giri fatti compiere al recipiente, allontanato attraverso l'apposita apertura; l'ossigeno naturalmente trascina con

sè l'aria contenuta nell'interno e quella mescolata al latte. Allora di nuovo si passa al riempimento con ossigeno e la pressione deve risalire a 10 atmosfere. L'operazione da tale momento si protrae per 5 ore: cioè il latte resta per 5 ore sotto pressione di 10 atmosfere ed a 55°. Infine si passa al raffreddamento, all'imbottigliamento ed al consumo.

Come abbiamo detto l'interesse per il nuovo metodo, che aveva già fornito latte agli ospedali dall'aprile 1940, era per noi assai vivo. Teoricamente il metodo doveva essere considerato una combinazione dell'azione del calore ormai consacrata da quasi un secolo di esperienza (pastorizzazione), con una particolare azione dell'ossigeno. Il metodo avrebbe dovuto collocarsi in serie con quelli abituali, pastorizzazione e stassanizzazione, ed in condizioni adatte al suo impiego, essere preferito soprattutto dal punto di vista della conservazione di tutti gli elementi utili per l'alimentazione e per la notevole durata di tale conservazione. In ogni modo i pregi che i produttori del latte « O » gli attribuivano erano i seguenti:

- 1) scomparsa dei microrganismi patogeni (tubercolosi ecc.);
- 2) assenza dei batteri del gruppo coli-aërogenes anche ricercati in 25-50 cc. di latte;
- 3) carica batterica minore di circa 1-2.000 germi in confronto del latte pastorizzato;
- 4) maggiore grado di conservabilità rispetto al pastorizzato stesso, a parità di condizioni cioè ritardo della coagulazione e degli altri processi di alterazione (conservazione perfetta per un mese se tenuto sotto pressione a temperatura ambiente);
- 5) maggiore durata dell'attività delle vitamine;
- 6) miglioramenti organolettici (scomparsa dell'odore di stalla del latte appena munto e dell'odore di cotto particolare del pastorizzato).

Data la nostra attrezzatura stabilimmo di ricercare nei campioni di latte « O »:

- 1) la carica batterica generale;
- 2) il gruppo del coli-aërogenes;
- 3) conservazione ed acidificazione a temperatura ambiente e di refrigerante.

Per avere i dati di confronto necessari parallelamente abbiamo disposto che le stesse prove venissero eseguite sul latte pastorizzato e su quello igienicamente raccolto ed autorizzato per consumarsi « crudo » in condizioni idonee. Bisognava perciò per ragioni ovvie, procurare i tre tipi di latte con etichette di scadenza identiche, ciò che fu possibile solo per breve tempo perchè il crudo scomparve dal mercato o per lo meno si ridusse enormemente per quantità e regolarità. Il latte in bottiglie da mezzo litro veniva acquistato in latterie site nelle vicinanze del nostro Istituto. Nel 1942 si poté per il pastorizzato e per l' « O » avere una migliore organizzazione di fornitura, ma neppure allora avemmo la fortuna di seguire il latte « O » in tutte le stagioni, come era nei nostri propositi.

Il prelevamento dei campioni che dovevano servire per la carica batterica ed il pH si effettuava appena le bottiglie erano giunte in laboratorio previa accurata agitazione; il latte restante in ciascuna bottiglia veniva versato in altre due sterili, una delle quali era mantenuta all'ambiente e l'altra posta in refrigerante. Il refrigerante era discretamente sensibile alla temperatura esterna; in primavera ed autunno oscillava tra 4-7°, ed in piena estate non si riusciva a mantenerlo ad una temperatura inferiore ai 9-13°.

1) - Carica batterica. La carica batterica fu ricercata con il metodo delle piastre all'agar comune (al brodo di carne), che si allestivano a diverse diluizioni a seconda di come si supponeva fosse il tenore in germi del campione in esame. Le piastre venivano incubate a 37° e le colonie sviluppatesi si contavano in genere dopo non meno di 5 giorni di termostato. Inoltre per ciascun campione si allestiva un saggio lattozimoscopico: 1 cc. di latte e sue diluizioni successive venivano seminate in altrettante provette di latte sterile ed incubate a 37°. Dalla forma del coagulo ottenuto si aveva un indizio della flora lattica prevalente. Contemporaneamente si ricercavano anche i microrganismi sporigeni gassogeni seminando come sopra in provette contenenti anche paraffina che venivano pastorizzate per 10' a 80°; se dopo qualche giorno di termostato a 37° il tappo di paraffina risultava spinto in alto ed il coagulo era spugnoso, si concludeva affermativamente per la presenza di questi microrganismi. Quest'ultima ricerca (sporigeni gassogeni) fu compiuta solo per la prima serie di analisi (1941) perchè essendo risultata sempre negativa per tutti i tipi di latte, giudicammo inutile continuarla.

2) - Batteri del gruppo del *coli-aërogenes*. Nella prima serie (1941) si usò il brodo al verde malachite di Zavagli, nella seconda (1942) il brodo lattosato al rosso fenolo di Neri; le diluizioni variarono a seconda del campione e della stagione.

3) - Conservazione a temperatura ambiente e di refrigerante. Dopo 3 giorni si eseguiva il secondo prelievo da ciascun campione tenuto alle due diverse temperature e si ricercavano sia la carica batterica che il gruppo del *coli-aërogenes*, sempre con i metodi sopra indicati.

4) pH. La determinazione veniva eseguita con il metodo potenziometrico sia immediatamente che dopo 3, 5, 7, 11, 15, 21 giorni per ciascun campione. I risultati sono riassunti nelle tabelle I e II seguenti.

a) *Carica batterica*. Dalle 10 analisi di confronto tra latte « O » e « crudo » (1941) risulta per il latte esaminato subito all'arrivo che il primo ha tendenza a raggiungere cifre un po' superiori al secondo, pure mostrando i due tipi di latte una carica batterica bassa vicina a quella normale del latte pastorizzato, cioè poche migliaia di germi per cc. Dopo due giorni di permanenza sia all'ambiente che in refrigerante, il risultato sembra simile, cioè l'« O » ha nella maggioranza delle analisi un numero di batteri un poco superiore a quello che risulta nel « crudo ». È però piccolo il numero delle analisi eseguite ed inoltre comprende una sola stagione, l'estiva, per cui non possiamo trarre nessuna conclusione precisa; parrebbe forse che se pure il latte « O » all'origine ha carica batterica più o meno simile a quella del « crudo », a parità di condizioni si conservi un po' meno bene di questo. Le analisi di confronto tra latte « O » e « pastorizzato » (1942) invece sono più numerose (45) ed abbracciano un periodo più lungo: primavera estate ed au-

tunno. Notiamo subito, come era da aspettarsi il graduale aumento della carica batterica per tutti i campioni a seconda che la stagione diviene più calda. Nelle analisi eseguite subito all'arrivo i due tipi danno risultati piuttosto simili; infatti l'« O » ha carica batterica superiore al « pastorizzato » solo in 21 casi, circa la metà; in quelle eseguite dopo 3 giorni di ambiente l'« O » invece è più ricco di microrganismi in 30, ed infine in quelle eseguite dopo 3 giorni di refrigerante in 29; in tutte le altre è simile al « pastorizzato ». Dunque se all'origine i due tipi più o meno si equivalgono, la conservabilità è senz'altro minore per l'« O » sia all'ambiente che in refrigerante.

b) Batteri del gruppo del *coli-aërogenes*. Notiamo subito che questi germi sono molto frequenti in tutte e tre i tipi. Nelle 10 analisi di confronto tra « O » e « crudo » (1941) in quelli esaminati subito dopo all'arrivo esso è più frequente nel primo che nel secondo così pure nelle altre di confronto tra « O » e « pastorizzato » (1942); in queste ultime, su 45 campioni, è presente in 43 di « O » di contro a 29 di « pastorizzato ». Nei campioni conservati all'ambiente ed in quelli in refrigerante, esso è sempre presente in tutti, nessuno escluso anche in diluizioni discretamente elevate. Nel complesso sia il latte « crudo » che il « pastorizzato » sono risultati più poveri di coli dell'« O ».

c) *Fermenti lattici, sporigeni, gassogeni, muffe*. Non vi furono differenze sensibili nei 3 tipi per la forma del coagulo che nella maggior parte dei casi si presentava compatto con qualche piccola spaccatura, forse più abbondante in quelli conservati all'ambiente. Osservammo invece con quanta frequenza nelle provette insemminate con il latte « O » si sviluppavano sulla superficie del coagulo delle muffe che poi lo invadevano del tutto. Nel latte esaminato subito all'arrivo trovammo le muffe in 39 campioni di latte « O » di contro ad uno solo di « pastorizzato »; in quello all'ambiente in 10 campioni di « O » di contro ad 1 di « pastorizzato » ed infine in quello esaminato dopo 3 giorni di refrigerante in 17 campioni di « O » di contro sempre ad 1 solo di « pastorizzato ». La ricerca degli sporigeni gassogeni essendo rimasta sempre negativa per tutti i campioni fu sospesa dopo un certo numero di analisi.

d) *pH*. L'acidificazione del latte « O » avviene un po' più rapidamente rispetto al « pastorizzato » e sembra anche rispetto al « crudo » se pure di poco. L'acidificazione di tutti e tre i tipi di latte è naturalmente più rapida all'ambiente che in refrigerante. Osserviamo dapprima il pH del latte « O » in parallelo con quello « crudo » (1941); abbiamo solo pochi dati in proposito, quelli risultanti dalle 3 analisi del mese di novembre, nelle quali il pH fu seguito quasi giornalmente e da cui si rileva come la coagulazione all'ambiente (19-22°) avvenga quasi contemporaneamente entro 2-3 giorni per entrambi con un anticipo di poche ore per l'« O »; in refrigerante (4-7°) entro 12-15 giorni per l'« O » e 2 o 3 giorni più tardi per il « crudo »; in complesso parrebbe che avvenga una acidificazione più rapida nell'« O » che nel « crudo » sia all'ambiente che in refrigerante, ma i dati sono pochi e non possiamo accettarli come definitivi. Del latte « O » in confronto con il latte « pastorizzato » (1942) abbiamo invece i dati di tutti i campioni in cui è stata fatta la ricerca della carica batterica (45). Ecco alcuni esempi tipici di acidificazione di latte « O » e di « pastorizzato » nei diversi mesi (v. tabella III).

TABELLA III

| | 13 maggio | | 22 luglio | | 19 agosto | | 14 ottobre | |
|-------------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Subito | Past. 6,8 | « O » 6,8 | Past. 6,9 | « O » 6,9 | Past. 6,7 | « O » 6,65 | Past. 6,65 | « O » 6,6 |
| Dopo 3 giorni | Amb. Refr. 5,5 | Amb. Refr. 4,45* | Amb. Refr. 4,6* | Amb. Refr. 4,35* | Amb. Refr. 4,45* | Amb. Refr. 4,35* | Amb. Refr. 4,15 | Amb. Refr. 4,6* |
| » 5 » | 6,8 | 4,3 | 6,55 | 4,35 | 5,7 | 4,35 | 6,65 | 6,6 |
| » 7 » | 6,8 | 4,2 | 5,8 | 4,3 | 5,3 | 4,35 | 6,65 | 6,6 |
| » 11 » | 6,6 | 4,25 | 4,75* | 4,2 | 4,65* | 4,15 | 6,55 | 6,5 |
| » 15 » | 5,0* | 4,25 | 4,7 | 4,19 | 4,65 | 4,0 | 5,1 | 4,8* |
| » 21 » | 4,9 | 4,1 | 4,7 | 4,11 | 4,6 | 3,8 | 4,15 | 4,1 |
| | | 4,8 | | 4,18 | | 4,45 | 4,8* | 4,6 |

* il latte era coagulato.

Si rileva dunque che nei mesi primaverili ed autunnali la coagulazione del latte « O » all'ambiente (10-18° circa) avviene entro 3 giorni, mentre quella del latte « pastorizzato » entro 5; in refrigerante (4-7°) entro 12-15 giorni mentre quella del latte « pastorizzato » entro 15-20 giorni; nei mesi estivi (22-32° circa) la coagulazione del latte « O » e del « pastorizzato » all'ambiente sono molto vicine, entro 48-72 ore, per quanto l'acidificazione sia un po' più accentuata nel primo che nel secondo caso; in refrigerante (9-13°) il latte « O » entro 7 giorni, mentre il « pastorizzato » in H giorni. Ci mancano i dati invernali per avere il quadro completo; quelli che abbiamo risultanti da 7 mesi di analisi, ci dicono che la acidificazione è costantemente più rapida per l'« O » che per il « pastorizzato ». Probabilmente non siamo molto lontani dal vero dicendo che anche d'inverno succede la medesima cosa se pensiamo che le temperature di 4-7° e 9-13° sperimentate come quelle di refrigerante durante la primavera e l'estate, corrispondono a quelle dell'inverno.

CONCLUSIONI

La carica batterica del latte « O » non risulta quindi di 1-2 mila germi minore di quella del latte « pastorizzato ». È da notare che quest'ultimo soprattutto nei mesi caldi ha dimostrato di avere un numero di germi notevolmente superiore a quello che si era soliti riscontrare in passato. Cercando una giustificazione ai nostri reperti pensiamo ne sia causa il rilassamento di tutte quelle buone norme igieniche che una volta venivano eseguite metodicamente e che in quel momento particolare venivano un poco trascurate come pre-refrigerazione, trasporto rapido, controllo della filtrazione, ecc. Per ciò il latte arrivava alla « pastorizzazione » già notevolmente più sporco che in passato ed il numero dei germi che vi restava anche dopo era di conseguenza più elevato. Infatti secondo il Renco la carica batterica del latte appena pastorizzato può essere molto varia perchè dipende dalla quantità e dalla qualità dei microbi presenti prima della pastorizzazione; tanto che in alcuni paesi (U.S.A. ed Inghilterra) un regolamento stabilisce quale deve essere il numero dei microbi presenti non solo dopo la « pastorizzazione » ma anche prima di essa. A tutte queste cause si può forse anche aggiungere che la stessa esecuzione della pastorizzazione e dell'imbottigliamento non potevano essere, in quel periodo, compiute con l'accuratezza dell'ante-guerra. Per cui se nelle analisi eseguite subito all'arrivo il numero di germi del latte « O » e del « pastorizzato » sono risultati circa pari è necessario tener presente che il « pastorizzato » aveva certamente una carica batterica ed una percentuale di *coli-aërogenes* più elevata del normale. Ne consegue che la parità tra i due tipi è fittizia, tanto più che per il « pastorizzato » si possono capire le cause del peggioramento, ma le stesse non dovrebbero aver valore per l'« O » ottenuto con un metodo studiato proprio per la purificazione e conservazione di latte ricco di germi ed eseguito in un impianto modello, su piccole partite con tutti gli accorgimenti tecnici del caso.

Di più il latte « O » nelle analisi eseguite dopo la permanenza all'ambiente ed in refrigerante, ha dimostrato di avere una carica batterica superiore a quella del « pastorizzato » nelle medesime condizioni, perciò si conserva

senz'altro. meno bene di questo. Il gruppo del *coli-aërogenes* è molto più abbondante nell'« O » che negli altri due; inoltre quest'ultimo diviene più facilmente preda di muffe. Anche riguardo all'acidificazione infine, sia a temperatura ambiente che in refrigerante, si osserva a carico dell'« O » una comparsa sensibilmente più precoce, e quindi una conservazione minore. Pertanto in base a quello che più sopra è stato riferito non abbiamo potuto riconoscere al latte « O » quelle prerogative che gli erano state attribuite e che erano implicitamente ammesse nella sua maggiorazione di prezzo rispetto al « pastorizzato ».

Come si vede i risultati esposti sono alquanto lontani da quelli che si sarebbero dovuti attendere. Tra i ricercatori che fin al presente hanno reso noto l'esito delle loro prove, il Ragazzi per quanto abbia avuto risultati incoraggianti conclude con molta prudenza consigliando il metodo solo in casi speciali e soprattutto per rifornire centri lontani dai luoghi di produzione. Le osservazioni del Petrini e dell'Attili sono sostanzialmente concordanti con le nostre.

RIASSUNTO

Si riferiscono i risultati di ricerche compiute sulla carica batterica, sui germi del gruppo del *coli-aërogenes* e sulla conservabilità a temperatura ambiente e di refrigerante del cosiddetto latte « O », latte trattato per 5 ore a 55° con ossigeno sotto pressione. La carica batterica è apparsa in complesso più alta, il gruppo *coli-aërogenes* decisamente più abbondante, l'acidità più precoce in confronto al latte « pastorizzato ».

SUMMARY

A report is given on the results of research carried out on the percentage of bacteria, on the *coli-aërogenes* group and on the preservation (both at normal room temperature and at refrigerator) of milk « O » (treated with oxygen under pressure). The bacteria percentage appeared higher, the *coli-aërogenes* group more abundant and the souring more rapid in comparison with pasteurised milk.

BIBLIOGRAFIA

- C. Arnaudi: «Elementi di Microbiologia generale ed applicata alle fermentazioni. » - C.E.A., 1948.
- P. Renco: « Microbiologia del latte e dei latticini », Hoepli, 1939.
- G. A.: « Latte "O" » - « Annali d'igiene », 1942, pag. 29.
- A. Ragazzi: « Il latte "O" » - « Riv. It. d'Ig. », maggio 1942, n. 5.
- M. Petrini e L. Attili: « Ricerche sui nuovi metodi di bonifica del latte vaccino (latte "O" e latte trattato con H₂O₂ a 130 v.). » « Boll. I. S. M. », vol. XXIV gennaio-giugno 1945.

Pervenuto in redazione il 5 luglio 1948.

STAMPATO COI TIPI DELLA
TIPOGRAFICA M I L A N E S E
VIA FARINI, 5 - TEL. 67.916