ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIV.

1907

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XVI.

2° Semestre.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1907

L'affermazione, che precedentemente avevo espresso, cioè che tale materiale proveniva dall'esterno, vale adunque anche per i *mitocondri*, i quali, come si è detto, furono fatti aumentare nel vitello mediante la ipernutrizione, ovvero scomparire per opera del digiuno.

Resta con ciò impregiudicata la questione dell'esistenza o meno di un *apparato cromidiale* nel senso di Riccardo Hertwig e dei suoi allievi, il quale apparato potrebbe essere qualche cosa a sè ed in relazione col nucleo, in modo da giustificare l'ipotesi della *binuclearità delle cellule*.

Batteriologia casearia. — *Studi sulla fabbricazione razionale del formaggio di Grana* [1]. Nota del prof. Costantino Gorini, presentata dal Socio G. Briosi.

Il formaggio detto Grana è uno dei principali rappresentanti del caseificio nazionale e particolarmente della Valle del Po, dove se ne fabbricano due tipi: uno, specialmente in Lombardia, che va sotto il nome di *Lodigiano*; l'altro, specialmente nell'Emilia, che corre sotto le denominazioni di *Parmigiano* e *Reggiano*.

Partendo dal concetto che, essendo i formaggi un prodotto di fermentazioni legate in massima parte alla vita di microrganismi, la loro preparazione e maturazione non possano venir convenientemente regolate senza la esatta conoscenza della natura e del lavorìo di questi, così non appena nel 1901, colla nomina a professore nella R. Scuola Superiore di Agricoltura in Milano, ebbi opportunità di allargare le mie ricerche di batteriologia lattiera (che datano dal 1890 [2]), impresi a studiare il Grana dal punto di vista biologico.

Il compito che mi sono prefisso non è solamente scientifico, ma altresì pratico, mirando a trarre dalla microbiologia e dalla igiene norme razionali da sostituire alle empiriche che tuttora dominano la fabbricazione del Grana, come di altri caci.

Ho diviso quindi il programma dei miei studi in tre parti:

1. Ricerche di laboratorio;
2. Esperienze pratiche;
3. Prove industriali.

[1] Lavoro eseguito nel Laboratorio di Batteriologia della R. Scuola superiore di agricoltura di Milano. Inviato all'Accademia il 30 Giugno 1907.

[2] V. Lavori dei laboratori scientifici della Direzione di Sanità, 1892; Rivista d'Igiene e Sanità Pubblica, 1893 e Hygien. Rundschau 1893.

1. *Ricerche di laboratorio.* — Delle ricerche, che furono eseguite nel Laboratorio di batteriologia della R. Scuola Superiore di Agricoltura di Milano, alcune formarono già argomento di comunicazioni alla R. Accademia dei Lincei (1), al R. Istituto Lombardo di Scienze e Lettere (2), alla Società Chimica di Milano (3), e furono pubblicate anche su riviste straniere della specialità (4). Altre si trovano tuttora in corso, procedendo esse parallelamente colle prove pratiche e industriali.

Qui mi limiterò a riassumere dai risultati delle ricerche quanto è necessario per comprendere l'indirizzo che ho dato alle prove pratiche ed industriali.

Il Grana appartiene alla classe dei formaggi a pasta dura o cotta.

È noto che, per spiegare la maturazione di questi formaggi, sono state tirate in campo parecchie specie o meglio parecchi gruppi di microbi.

Ricordo fra i principali: il gruppo dei B. peptonizzanti indicati dall'Adametz di Vienna, il gruppo dei B. lattici sostenuti dal Freudenreich di Berna, il gruppo degli anaerobi e segnatamente dei fermenti butirrici additati dal Weigman di Kiel; io stesso ho designato quel gruppo di bacteri che feci conoscere nel 1892 sotto il nome di *bacteri acido-presamigeni* (5).

A questo proposito mi trovo costretto ad alcune dichiarazioni.

Mentre esprimo la mia soddisfazione per l'interesse e l'importanza che in questi ultimi tempi, da varie ed autorevoli parti, si va riconoscendo ai bacteri acido-presamigeni nel caseificio, non posso a meno di manifestare il mio rincrescimento nel vedermi attribuire da taluno l'opinione che questi bacteri siano i *più importanti* agenti di maturazione dei caci (6). Ora, potrà anche darsi che questo sia il caso per alcune qualità di formaggio; tuttavia ci tengo a dichiarare che io non ho mai sostenuto una simile tesi; fin dal 1894 ho avanzato l'ipotesi che i bacteri acido-presamigeni, in grazia della loro capacità di peptonizzare la caseina in ambiente acido, fossero in grado di *partecipare* al processo di maturazione. Questa ipotesi fu poi da me stesso e in seguito da altri esperimentatori riconosciuta fondata; oggi infatti si può ben dire che in tutti i formaggi a pasta dura fu riscontrata la presenza di bacteri acido-presamigeni-pepnotizzanti (7), ma non da soli, sibbene accanto

(1) Rendiconti della R. Acc. dei Lincei, 1902, v. XI, pag. 159: 1905, v. XIV, pag. 396.

(2) Rendiconti del R. Ist. Lomb. di sc. e lett., 1901, serie 2ª, v. 34°; 1904, serie 2ª, v. 37°, pag. 74; Ibidem, pag. 939; 1906, serie 2ª, v. 39°, pag. 236; 1907, serie 2ª, v. 40°.

(3) Annuario della Società Chimica di Milano, vol. XI, fasc. 2°, 1905.

(4) Revue gènérale du lait, 1902, vol. I, n. 8; 1904, vol. III, n. 22; 1904, vol. IV, n. 4; 1906, vol. V, n. 8; 1907, vol. VI, n. 8; Centralblatt für Bakterioiogie etc., 1902, II Abt., Bd. 8, pag. 137; 1904, II Abt., Bd, 12, pag. 78; Milchwirthschaft. Centralblatt, 1905, H. 11, pag. 494 ed altri (Molkerei-Zeitung di Berlino etc.).

(5) V. miei lavori sub 1).

(6) Giornale della R. Società It. d'igiene, 1894.

(7) Cfr. fra gli altri: *a*) per il formaggio Emmenthal, Landw. Jahrb. d. Schweiz,

ai fermenti lattici propriamente detti, come io stesso ebbi a dimostrare per il Grana (1).

Cosicchè, allo stato odierno delle nostre cognizioni, i gruppi bacterici meglio quotati, meglio legittimati come agenti maturatori dei caci a pasta cotta sono certamente i fermenti lattici e gli acido-presamigeni.

Io però (come già accennai altra volta) non credo che l'intervento di altri gruppi bacterici sia da escludersi del tutto e in ogni caso.

La mia opinione è che alla maturazione *normale* del Grana possano contribuire parecchie specie microbiche in simbiosi.

Quest'è la conclusione a cui mi sento condotto, in base a numerose e ripetute analisi sia microscopiche (col metodo delle sezioni già da me proposto (2)) sia culturali, che eseguii sopra molti formaggi in differenti momenti della loro fabbricazione, in differenti stadî della loro maturazione, e fabbricati in diverse località.

Dicendo *possano* non intendo dire *debbano*. Verosimilmente non tutte le specie microbiche che si trovano in un formaggio sono necessarie alla sua maturazione; forse, vi sarà da distinguere fra una flora microbica fondamentale (costituita, nel caso presente, da fermenti lattici e da bacteri acido-presamigeni) ed una flora accessoria, la quale interverrebbe soltanto a creare certe varietà di formaggi. Del resto non è da dimenticare che anche di fermenti lattici e di acido-presamigeni se ne hanno parecchi tipi e razze. Ora io penso che, a seconda della natura delle specie microbiche nonchè delle proporzioni rispettive in cui esse si sviluppano, il processo di maturazione, pur restando nei limiti della normalità, prenda una piega, un'intonazione piuttosto che un'altra.

È noto infatti quanta diversità di caratteri presenti il nostro Grana, quanta poca uniformità di gusto, odore, colore, struttura ecc. Queste differenze sono senza dubbio in rapporto coi pascoli, col clima, colla mano d'opera; io penso però che lo siano anche colla natura dei fermenti; ed anzi che molte influenze foraggiere, climatiche, tecniche si risolvano in ultima *ratio* in influenze microbiche.

Comunque sia di ciò, il concetto che io mi sono formato sulla pluralità degli agenti maturatori del Grana, vale a giustificare il metodo che ho escogitato per influire sull'indirizzo del processo di maturazione dello stesso.

1904 e segg. (De Freudenreich e Orla Jensen); *b*) per il formaggio Edam, Revue Générale du lait, VI, n. 11, 1907 (Boekhout e De Vries); *c*) per il formaggio Cheddar, Report of the Agric. Exper. Station of the Univ. Wisconsin, 1904 (Russel e Hastings); Centralbl. f. Bakter. Abt. II, Bd. XII, n. 19-21 (Boekhout e De Vries).

(1) Rend. R. Acc. Lincei, 1905, vol. XIV, pag. 396.

(2) Rend. R. Ist. Lomb. sc. e lett., 1904, serie 2ª, vol. 37°, pag. 74.

Questo metodo si appoggia sopra due cardini:

1. regime igienico della stalla e del caseificio;

2. aggiunta di colture batteriche pure, dette comunemente *fermenti selezionati.*

Col regime igienico miro a diminuire la carica microbica naturale del latte, e segnatamente quella dei microorganismi pericolosi, senza sopprimerla del tutto; coll'aggiunta dei fermenti selezionati tendo ad imprimere un determinato orientamento al lavorìo microbico nel formaggio, senza soppiantare la flora naturale.

Tanto il complesso delle norme costituenti il regime igienico (1), quanto le culture batteriche costituenti i fermenti selezionati sono e devono essere *frutto delle osservazioni pratiche e delle ricerche di Laboratorio* che son venuto e che vado tuttora facendo.

Da molte parti mi si è domandato perchè io non sottoponga il latte a qualche trattamento di sterilizzazione.

Senza dubbio l'ideale del batteriologo caseario deve consistere nel preparare prima un latte sterile, cioè privo di flora naturale, e nell'addizionarlo poscia delle specie microbiche che sono *necessarie* e *sufficienti* alla produzione del cacio.

Ma questo ideale presuppone la soluzione di due problemi che io non ritengo ancora risolti, almeno per rispetto al Grana, e cioè:

1. che vi siano mezzi *pratici* per ottenere latte sterile, amicrobico, senza alterarne le proprietà coagulanti e caseificanti;

2. che si conoscano appieno gli agenti e i processi fermentativi che presiedono alla maturazione del formaggio.

Allo stato attuale delle nostre cognizioni credo conveniente accontentarsi per ora di aspirazioni più limitate.

Il metodo da me scelto invece non apporta nessuna modificazione alle qualità del latte, e in pari tempo non sopprime gli altri agenti di maturazione che eventualmente fossero necessari, oltre a quelli che vi vengono artificialmente introdotti colle culture pure; esso tende semplicemente a preparare a queste ultime il terreno favorevole perchè possano spiegare la loro influenza.

2. *Esperienze pratiche.* — Fissati così i punti fondamentali del metodo, io non mi sono indugiato [come si fece altrove sotto l'influsso di idee, a mio credere, troppo unilaterali sui fattori del cacio] in tentativi per fabbricare dei formaggi anormali da Gabinetto, arrivando a risultati i quali, per le condizioni eccezionali in cui sono ottenuti, non si prestano a deduzioni pratiche.

(1) Fra le mie ricerche relative al regime igienico mi piace ricordare specialmente quelle sui bacteri dei dotti galattofori delle vacche in rapporto all'igiene della mungitura (R. Acc. Lincei 1902; R. Ist. Lomb. 1906 e 1907).

Ritenni bensì opportuno di passare senz'altro alla seconda fase del mio programma, di tentare cioè l'applicazione pratica del metodo; ciò feci sia nell'interesse immediato della pratica stessa, sia per acquistare lumi ed indizi circa l'importanza di certe norme igieniche e l'influenza di determinate specie microbiche sulla riuscita del Grana.

L'essenziale stava nel far sì che le prove pratiche fossero condotte coi metodi e coi mezzi necessari perchè i risultati riuscissero attendibili, e convincenti per tutti, tecnici e pratici. Debbo all'illuminata e generosa cooperazione di un gruppo di agricoltori lombardi (1) nonchè agli aiuti del Ministero di agricoltura e della Direzione della Scuola di Milano, se ho potuto *fin dal luglio 1903* ottemperare alla bisogna, istituendo le prove col seguente indirizzo che ben merita di essere chiamato scientifico-pratico:

1. Prove eseguite nelle *condizioni abituali* di fabbricazione del Grana, e cioè:

a) in un caseificio costrutto e situato come di norma, in campagna, presso la stalla lattifera (a Trenno presso Milano);

b) sopra formaggi di dimensioni normali e fabbricati da un casaro specializzato per Grana.

2. Prove eseguite secondo il *metodo comparativo* più rigoroso possibile;

3. Prove eseguite in *numero ragguardevole*, in *serie consecutive* ed in *diverse stagioni*;

4. Prove eseguite sotto il *controllo di tecnici e di pratici.*

Queste prove iniziate, come dissi, nel 1903, continuarono fino al 1906, e sommarono ad oltre 300 coppie di formaggi.

Sull'andamento e sui risultati parziali di queste prove ho già riferito in parecchie occasioni (2); ma di esito definitivo non si è potuto parlare che in questi ultimi tempi, in causa della lunga durata di maturazione del Grana, segnatamente del tipo lombardo.

Fortuna volle però che la maturanza di una serie di formaggi di prova coincidesse coi concorsi internazionali di caseificio che si tennero nei mesi di maggio e settembre 1906 in occasione dell'Esposizione internazionale di

(1) Sulla costituzione e sui componenti di questa Associazione che s'intitola « per studi sulla fabbricazione razionale del formaggio di Grana » ed è presieduta dal senatore Giulio Vigoni ho già riferito in una precedente mia Nota (Rend. R. Acc. Lincei, 1905, vol. XIV).

(2) V. le Relazioni annuali al Presidente dell' « Associazione pro Grana »; Rel. prima per il 1903, Milano, tip. Agr. 1903; Rel. seconda per il 1904, in Bollettino Uff. Ministr. Agricoltura, 1905, vol. I, p. 525; Rel. terza per il 1905, in Bollett. Uff. Min. Agricolt., 1906, vol. VI, pag. 257; Rel. quarta per il 1906 (in corso di stampa). V. anche le Comunicazioni al Congresso Agrario Nazionale, Brescia 1904; al Congresso intern. di latteria, Parigi, 1905; al Congresso intern. di Chimica applicata, Roma, 1906; al Congresso intern. di Agricoltura, Vienna, 1907; al Congresso nazionale di latteria, Reggio Emilia, 1907, etc. (cfr. i relativi Rendiconti).

Milano; per cui essi poterono essere sottoposti all'esame di due Giurie internazionali composte di esperti italiani, francesi, svizzeri e olandesi, i quali (astrazione fatta dalle premiazioni accordate alla benemerita Associazione *pro Grana*), trovarono gli studi e i risultati oltremodo interessanti. « Essi destarono, come dice la relazione della Giurìa, nell'animo dei giurati, viva compiacenza, poichè il problema dei fermenti selezionati da applicarsi ai formaggi, che è riconosciuto tanto difficile dalla batteriologia di ogni paese, ha trovato nelle prove in discorso una base sperimentale degna di ogni encomio e di ogni incoraggiamento ».

E anche recentemente un'autorevole rivista lattiera di Germania (la Milch-Zeitung di Lipsia, n. 9, 1907) riferiva, nel suo articolo di fondo, in termini molto lusinghieri circa l'esito delle prove riconoscendo che esse valsero a dimostrare *per la prima volta*, *in modo strettamente sperimentale*, *e col verdetto di una Giurìa internazionale*, l'utilità pratica delle applicazioni batteriologiche al caseificio. E conclude augurandosi che anche per altre qualità di formaggi, la scienza e la pratica si diano la mano, sull'esempio di quanto si fece in Italia per il Grana.

3. *Prove industriali.* — Ora che cosa ci hanno insegnato le prove pratiche?

Che coll'aggiunta di culture bacteriche pure *siamo in grado* di influire, e di influire vantaggiosamente, sulla riuscita del Grana. Lungi dall'entrare qui in particolari, possiamo ritenere in termini generali che coi fermenti selezionati si riesce a *facilitare la fabbricazione e a migliorare la pasta dei formaggi.*

Ma dalle prove stesse emergono altri fatti.

Sebbene esse siano state eseguite in un solo casello, tuttavia, mediante opportune modificazioni introdotte espressamente nei trattamenti e nelle operazioni diverse, si è potuto constatare che l'effetto di queste colture è legato ad un complesso di condizioni di latte, di lavorazione e di ambiente, è subordinato a certi accorgimenti di regime igienico che è necessario studiare partitamente e con amore per poter addivenire a delle norme per il più proficuo impiego dei fermenti stessi e per trarre dal nuovo metodo tutti i vantaggi che è destinato a recare; norme e vantaggi che io non penso debbano essere uguali per tutti i luoghi e per tutti i casi.

A un tal ordine di studi è destinata la terza fase del mio programma, *le prove industriali; industriali* nel senso che l'applicazione del metodo deve venir eseguita su larga scala e dagli stessi industriali in diverse località, variando ambiente, latte e lavorazione.

Un tal genere di prove ha avuto principio fin dall'anno scorso e continua tuttora regolarmente in una quindicina di caselli, e saltuariamente in altri (1).

(1) I formaggi Grana fabbricati coi fermenti selezionati raggiungono già il numero di seimila; i primi fabbricati hanno compiuto testè il primo anno di età.

L'esito è fin qui soddisfacente, ma naturalmente come ci vollero tre anni per avere dei responsi definitivi dalle prove pratiche, così ne occorreranno parecchi per averne dalle prove industriali.

E come si è proceduto con rigore e con riserbo nelle prime, così si procede colla massima cautela nelle seconde, le quali pur essendo, come dissi, affidate agli industriali, stanno *sempre sotto la mia diretta sorveglianza* (sorveglianza che esercito mediante istruzioni, consigli, visite sopra luogo etc.).

In tal guisa con queste prove si raggiungono due intenti:

1. verificare se e come le colture batteriche pure (*che naturalmente vengono sempre preparate e distribuite sotto il mio controllo*) riescano nel loro ufficio in mano degli industriali e nelle più svariate condizioni;

2. diffondere i moderni principii di caseificio fondati sulla microbiologia e sull'igiene, studiando di metterli d'accordo cogli interessi dei produttori e dei lavoratori del latte.

A ciò valgono sia le istruzioni e i consigli che sono dati personalmente ai singoli agricoltori, casari, mungitori e famigli, sia le conferenze che vengono tenute nei principali centri lattiferi (Milano, Lodi, Codogno, Abbiategrasso, Pavia, Corteolona, Suzzara, Reggio Emilia, Quistello, ecc.).

È consolante riconoscere che questa opera di propaganda incontra il massimo favore e raggiunge pienamente il suo intento, per il fatto precipuo che nel nuovo indirizzo biologico i lavoratori del latte trovano la chiave per spiegare molti fenomeni che essi avevano empiricamente accertato ma che restavano fin qui avvolti nel mistero. Per questa via si va irradicando anche fra i profani il convincimento che coll'aiuto della microbiologia si arriverà a dominare molti fattori del caseificio, i quali si ritenevano finora in balia della *sorte*.

Ed ancora: certe norme igieniche nel governo della stalla e del caseificio, che prima si ignoravano affatto oppure si calpestavano *scientemente*, considerandole superflue e persino dannose (!), oggi cominciano ad essere prese in seria considerazione dappoichè si comincia a comprenderne ed apprezzarne gli intimi rapporti colla buona riuscita dei prodotti del latte.

Riepilogo. — Scopo della presente Nota era di esporre per sommi capi l'opera scientifica e pratica che da sei anni vado spiegando e che mi sono imposto di proseguire in favore dell' industria casearia nazionale, colla ferma volontà che sempre deve soccorrere quando si sente di compiere un dovere.

E un *dovere* io reputo, per chi è preposto ad una cattedra di batteriologia agraria, quello di avviare il caseificio locale sopra il moderno indirizzo fondato sulla microbiologia e sull'igiene (1).

(1) Circa questo indirizzo v. anche le mie pubblicazioni: *Contributo allo studio del*

Nello svolgere il mio programma, siccome ho sopra enunciato, mi sono attenuto ai seguenti criteri direttivi:

1. Istituire le *ricerche di laboratorio* sulla scorta delle osservazioni empiriche procurando di trovare in quelle la chiave di queste;

2. Passare dalle indagini scientifiche alle *esperienze pratiche* non appena da quelle siano scaturiti dei fatti che sembrino suscettibili di applicazione pratica diretta;

3. Una volta riconosciuta l'utilità di queste applicazioni, curarne la diffusione e l'adattamento alle diverse circostanze mediante *prove industriali*;

4. Chiamare a collaboratori e a giudici gli stessi uomini dell'arte: cosa questa che ritengo della massima importanza e necessità, così per gli studi come per la propaganda, dato l'empirismo e il segretismo da cui trovasi tuttora avvolta e avvinta l'arte casearia.

Mi è di incitamento a procedere nella via intrapresa, oltre ai risultati ottenuti, il favore che l'opera mia incontra nel mondo caseario non solamente italiano ma benanco straniero (1).

---

caseificio italiano dal punto di vista igienico-batteriologico, Bollettino Ufficiale del Ministero di Agricoltura, 1906, vol. III, p. 621; *Il moderno indirizzo biologico del caseificio*. Nuova Antologia, 1° giugno 1907.

(1) Dalla benevola accoglienza che alle mie comunicazioni venne fatta ai Congressi Internazionali di latteria (Parigi 1905, dove il nostro Paese risultò essere stato il primo ad istituire rigorose e numerose prove di pratiche applicazioni batteriologiche al caseificio) e di Agricoltura (Vienna 1907, dove il nostro Paese servì di esempio e di stimolo per il cimentamento delle applicazioni stesse nel vasto campo della industria), nonchè dalle lusinghiere relazioni che sulle riviste estere della specialità (Milchzeitung di Lipsia, Revue Générale du lait di Bruxelles; Molkerei Zeitung di Berlino; L'industrie laitière di Parigi etc.) comparvero in varie riprese circa l'andamento delle succitate prove e circa il surriferito esito dei Concorsi alla Esposizione di Milano 1906, emerge chiaramente che al nostro Paese spetta ed *è riconosciuto* (cosa questa non molto frequente) il primo posto nell'odierno movimento per l'indirizzo biologico del caseificio. Auguriamoci che esso possa conservare questo primato nella benefica gara internazionale per la progressiva redenzione dell'industria casearia dall'empirismo!

E. M.