

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXIV.

1917

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVI.

1° SEMESTRE.



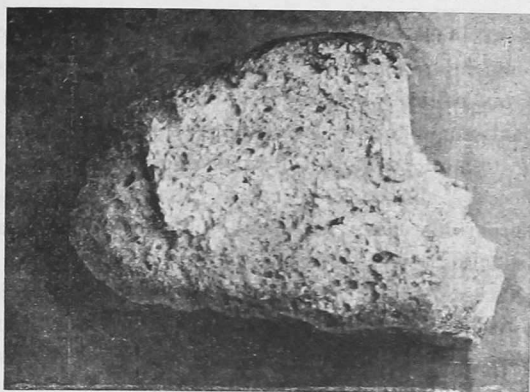
ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1917

Microbiologia — *Sopra una alterazione del pane prodotta da lievito infetto con *Oospora variabilis*, Lindner. Nota di G. FICAI e R. PEROTTI⁽¹⁾, presentata dal Socio G. CUBONI.*

Durante la esecuzione di alcune nostre ricerche nel Laboratorio consorziale di igiene e di agraria della provincia di Arezzo, nel giugno 1915, venne presentato all'esame un campione di pane fortemente attaccato da un micete, in condizioni tali da esser reso entro breve tempo immangiabile.



L'alterazione del campione, di cui presentiamo, qui unita, la fotografia di una sezione, offriva un aspetto caratteristico, in quanto che il fungo tappezzava uniformemente ogni alveolo del pane con un abbondante velo di colore bianco-latte.

Fino dal primo esame microscopico del fungo si rilevò trattarsi di una specie appartenente al genere *Oospora*, che noi ci proponemmo di determinare, nonchè di studiare dal punto di vista biologico e culturale ed infine d'inoculare artificialmente nella pasta per riprodurre l'alterazione nel pane e stabilire le condizioni in cui essa potesse verificarsi.

Riuscimmo nello scopo prefissoci, e qui appresso riferiamo succintamente i risultati delle nostre ricerche.

I. MORFOLOGIA E RIFERIMENTO SISTEMATICO. — Trattasi di conidi subglobosi od ellipsoidei, nucleati, di μ 1,5-4,5 \times 1,5-3,5. Sono disposti in catene ramificate, molto facilmente scissili.

⁽¹⁾ Ricerche eseguite nel R. Laboratorio di batteriologia agraria di Roma e nel Laboratorio consorziale di igiene ed agraria di Arezzo.

La forma è riferibile alla specie *Oospora variabilis* Lindner (*Monilia variabilis*, Lind.) da lui rinvenuta su pane bagnato in Berlino (¹).

La specie è nuova per l'Italia.

II. PROPRIETÀ BIOLOGICHE E CARATTERI CULTURALI. — In acqua peptonizzata, sia a 37° C., sia a temperatura ambiente, non si ha in fondo alla provetta che un minimo sviluppo, senza intorbidamento del terreno culturale.

In brodo ordinario lo sviluppo è insignificante, come sopra. Il terreno rimane alcalino. In brodo saccarato si ottiene un tenue sviluppo in fondo alla provetta ove si nota, dopo 24^h di termostato a 37° C., un deposito granuloso, biancastro, fioccoso e polverulento. Il terreno non s'intorbida e rimane alcalino.

Le colture in brodo saccarosato, lasciate per tre mesi chiuse in un armadio alla temperatura ambiente, sono poi rigogliosissime. Non si osserva intorbidamento, ma pellicola bianco-lattea in superficie e sedimento fioccoso, bianco, abbondantissimo. Non si ha sviluppo di gas.

In brodo lattosato lo sviluppo è abbondante in superficie, ove si osserva un ammasso fioccoso, abbastanza compatto, biancastro. Con lo scuotimento si distaccano fiocchi che cadono al fondo. Il terreno rimane alcalino: nessuno sviluppo di gas.

In brodo glucosato si ottiene abbondante sviluppo della colonia in superficie, ove si osserva un ammasso fioccoso, biancastro, compatto. Il terreno sottostante rimane limpido. Si osserva evidente sviluppo di gas, e il terreno da alcalino è divenuto acido.

Su gelatina ordinaria si ha assenza di sviluppo, o quasi. Le colture, lasciate in armadio a temperatura ambiente, si sono mostrate bene sviluppate lungo il tramite d'infissione, senza fluidificazione.

Su agar ordinario e su agar di albumosa lo sviluppo fu nullo o quasi.

Invece, su agar di fagioli fu abbondante, rapido, esuberante. Le colonie, piccole, rotonde, con il centro sollevato, hanno superficie rugosa, bianca asciutta; i margini, ne sono filamentosi, stellati e, ad un piccolo ingrandimento, risultano costituiti da un intreccio di filamenti che si ramificano dicotomicamente. Con il tempo le colonie divengono confluenti, rigogliose e si conservano bianche alla periferia, leggermente roseo-arancio pallido al centro.

Su patata semplice o glicerinata lo sviluppo, rigoglioso, abbondante, rapido, dà luogo in superficie ad un intonaco asciutto, rugoso a margini finalmente radiati, di aspetto d'intonaco di calce. Con l'invecchiare delle colture, non si ha sviluppo di pigmento.

(¹) Rabenhorst L., *Die Pilze Deutschlands, Oesterreichs u. der Schweiz*, VIII Abt., pag. 34.

Concludiamo, adunque, come l'ifomicete attacca fra gl'idrati di carbonio soltanto il glucosio con sviluppo di anidride carbonica e probabile formazione di acido lattico. Soltanto su agar di fagioli, dopo due o tre settimane, si sviluppa un pigmento roseo-arancio pallido.

III. PROVE D'INFEZIONE. — Prima di tentare la riproduzione artificiale dell'alterazione del pane attraverso la via che i caratteri dell'infezione ci avevano fatto supporre la più verosimile, e, cioè, mediante lievito contenente oospora, abbiamo voluto determinare la temperatura di uccisione delle spore ed eseguire alcune prove d'infezione preliminari.

In tubetti sterilizzati si posero 2 cmc. di abbondante sospensione in soluzione fisiologica delle colonie sviluppate su agar di fagioli. I tubetti si tennero per 20 minuti alle temperature di + 150°, 130°, 120°, 110°, 100° C.

Le prime due prove furono fatte in stufa a secco e dimostrarono che a tale temperatura l'ifomicete è ucciso. Le prove a + 120° e + 110° C. furono fatte in autoclave ed anche a questa temperatura i conidi rimasero uccisi. La prova a + 100° C. fu fatta a vapore fluente e si ebbero i risultati del seguente prospetto, dove, in funzione della temperatura (T) e della sua durata (t), +++ indica conidi vivi; --- indica conidi morti.

T	t	Risultati	Controlli
100° C	5'	+++	+++
100° "	10'	---	+++
100° "	20'	---	+++
100° "	30'	---	+++
100° "	60'	---	+++

Su fette di pane ordinario, poste entro scatole Petri grandi e sterilizzate in autoclave a + 115° C. per 20', fu seminato l'ifomicete, il quale si sviluppò rigogliosamente alla temperatura ordinaria, con aspetto però differente da quello su agar di fagioli. La superficie di sezione del pane si viene, poco a poco, rivestendo di un intonaco uniforme, bianco che fa rassomigliare il pane ad un *pezzo di pomice bianca spugnosa*, oppure ad un *intonaco di gesso* aderente alla mollica. Nessuno sviluppo si osserva sulla crosta od in vicinanza, ove la colonia bruscamente si arresta.

Lo sviluppo nel pane avviene uniformemente in superficie, senza sollevamenti, cosicchè la colonia sviluppandosi s'insinua negli alveoli del pane, li tappezza, rimonta alla superficie e continua così negli alveoli contigui.

IV. RIPRODUZIONE ARTIFICIALE DELL'ALTERAZIONE. — Queste ricerche possiamo distinguerle in positive e negative: tanto le une, quanto le altre

ci hanno egregiamente servito per fissare le cause dell'alterazione da noi riscontrata e le condizioni nelle quali essa può verificarsi.

Prove negative. — Ad un chilo di pasta (farina ed acqua) si aggiunge il lievito necessario e s'impasta il tutto con 100 cmc. di acqua sterile nella quale è stata sospesa abbondante quantità di coltura, in modo da distribuire le spore uniformemente in tutta la pasta. Questa viene divisa in cinque panini di 100 gr. ciascuno ed in un pane da 500 gr. Dopo il necessario periodo di lievitazione i pani sono portati in forno e vi sono tenuti per quasi un'ora alla temperatura di oltre 150° C. (si tratta di un forno modello, sistema Stella). Dopo 24 e 48 ore si tagliano i pani, ma non si osserva alcuno sviluppo dell'ifomicete.

Due panini aperti dopo cinque giorni non dimostrano alcuno sviluppo. Il pane da 600 gr., dopo sei giorni, dà il medesimo risultato.

Prove positive. — Dopo eseguito l'impasto di una notevole quantità di farina, al momento in cui la pasta è frazionata in pani e innestata con lievito, s'inocula ogni pane di circa un chilo con 10-20 cmc. di emulsione acquosa di coltura di oospora, rimpastando accuratamente.

Il forno, riscaldato a fascine di legna, non era ad alta temperatura; ed il pane, dopo due ore di cottura, fu tolto in apparenza sufficientemente cotto, però con un contenuto in umidità, determinata 8 ore dopo lo sfornamento, del 38-42 %.

Di quattro pani, lasciati a sè, dopo tre giorni, in due l'oospora all'interno era bene sviluppata; negli altri due lo era discretamente a zone. Tutti i pani, lasciati a sè, si sono poi ricoperti della patina bianca.

CONCLUSIONE. — L'elevata temperatura del forno, la buona cottura, specialmente se trattasi di pani di piccolo peso, impediscono lo sviluppo di *O. variabilis*; mentre la cottura incompleta, che lascia un elevato contenuto di umidità, in forno non convenientemente riscaldato, specie con grossi pani, porta all'alterazione di questi per sviluppo di detto ifomicete.

I germi di questo si trovano nel lievito; e non v'ha dubbio che esso rappresenti il veicolo d'infezione nel caso da noi riscontrato ed illustrato.

Dovrà, quindi, porsi ogni cura nella buona conservazione del lievito e generalizzarsi l'uso nella panificazione di lieviti razionalmente preparati.