Temperatura e chimismo dei blastomiceti

Prof. Tommaso Castelli (Dir. Inc.)

(Ricevuto il 17 ottobre 1941-XIX)

In una nota precedente ho riferito (1) una serie di analisi chimiche condotte su liquidi completamente fermentati ottenuti seminando un medesimo mosto di uva bianca con numerosi stipiti blastomicetici isolati dai materiali più vari. Detta nota ha rappresentato soltanto una ricerca di orientamento per indagini successive da condursi esclusivamente su forme isolate da mosti in fermentazione. Tutti riconoscono ormai l'efficacia dell'uso di culture pure da usare alla vendemmia per la preparazione di mesti-lieviti onde ottenere un regolare andamento della fermentazione. L'industria produce e smercia, forse non troppo largamente, questi materiali che vengono indicati col nome di fermenti selezionati. Non è certamente di questa sede lo scopo di fare una critica dei singoli prodotti che si trovano in commercio; è però opportuno ricordare che a detti preparati commerciali vengono attribuiti anche degli effetti miracolosi che non sono sufficientemente suffragati dalla ricerca scientifica. Così ad esempio nessuno più crede alle decantate caratteristiche di alcuni lieviti, isolati da uve o vini famosi, capaci di far ottenere un dato tipo di vino qualunque fosse stato il mosto dal quale si era partiti. Ma tralasciando questa questione sulla quale sia uomini di valore, anche recentemente (2), come la pratica hanno dimostrato la completa infondatezza, si parla tutt'ora di lieviti da usarsi per la vinificazione di uve bianche o di uve rosse, di culture da adoperarsi in singole regioni o di materiali che riuscirebbero a fornire ottimi risultati in qualsiasi zona e per qualunque mosto. È ovvio riconoscere che dette indagini si presentano tutt'altro che semplici anche perchè esse si possono considerare rispondenti soltanto se eseguite su un numero abbastanza rilevante di culture. Con questo intendimento in laboratorio sono state isolate culture di blastomiceti in numero veramente imponente (oltre 1000) nelle ricerche eseguite sugli agenti della fermentazione vinaria nell'Umbria (3), nel Chianti classico e zone limitrofe (4) (5) e nei colli romani (6). Di queste culture ne sono state mantenute alcune che in saggi preliminari hanno dimostrato di possedere certe caratteristiche e su di esse verranno condotte diverse indagini.

Nella presente nota vengono riferiti i risultati di alcune analisi chimiche eseguite su liquidi provenienti da uno stesso mosto ma seminato con 20 diverse culture di blastomiceti e mantenuti a temperature differenti. Prima di esporre i risultati ottenuti e le deduzioni che da essi si possono trarre ritengo necessario passare in rapida sintesi quanto è stato scritto in proposito specialmente da autori italiani.

La ricerca di eventuali specie o razze di lieviti capaci di fermentare

bene a determinate temperature interessa moltissimo la pratica enologia specialmente in una nazione come la nostra ove il vino viene prodotto in tutte le regioni che presentano temperature ben differenti al momento della vendemmia. Chiunque abbia conoscenze, sia pure in elementi, di enologia o meglio possegga cognizioni pratiche in proposito sa bene a quali accorgimenti necessita ricorrere specialmente per difendersi dall'elevata temperatura nel meridione, e come le cantine del settentrione debbono essere fornite di caloriferi perchè spesso, in dette regioni, la temperatura durante la vendemmia è talmente bassa che il mosto stenta ad iniziare la fermentazione e questa procede lentamente.

Si ritiene oggi che l'ottimo di temperatura dell'ambiente dove avviene la fermentazione tumultuosa debba essere intorno a 18° .

Vecchie ricerche di Ravizza (7) hanno dimostrato che sia l'elevata concentrazione del mosto come l'alta temperatura ostacolano la fermentazione. A temperature basse, intorno a 12°, la fermentazione può verificarsi in maniera completa però essa si prolunga per un periodo di tempo troppo forte. La temperatura migliore per mosti contenenti circa il 20 % di zucchero risulta, secondo Ravizza, essere quella di 25°. Fonseca (8) riferisce che è notevolmente svantaggioso vinificare, nei paesi caldi, ad elevate temperature. I vini che così si ottengono rimangono dolci, meno alcolici, contengono maggiori quantità di acido acetico e sono predisposti ad ammalare. Anche Müller Thurgau (9) operando a temperature di 9°, 18°, 25° e 36° riferisce che i migliori risultati si ottengono a 18°; a 9° si ha una maggiore produzione di alcol però la fermentazione si prolunga troppo.

Ricerche di Mensio (10) dimostrano chiaramente che la temperatura di 20° è quella che si deve considerare la più rispondente poichè in tal maniera si ha produzione di più alcol e l'acidità volatile è bassa. A temperatura di 27° e specialmente di 35° si ha un notevole abbassamento della quantità di alcol e un sensibile aumento dell'acidità volatile. A 10° la produzione di alcol e di acidi volatili non diversifica sensibilmente da quanto si ottiene a temperatura di 20° però la fermentazione si prolunga troppo. Si è notato che generalmente i vini ottenuti da mosti fermentati a temperature piuttosto basse presentano caratteri di finezza maggiori di quelli che si ottengono da fermentazioni normali. Si possono citare a questo scopo, tra le tante, le ricerche di Briganti-Rossi e Ulpiani (11) i quali presero anche un brevetto per un sistema di vinificazione a bassa temperatura. Riferiscono essi che facendo fermentare mosto di uva catalanesca comparativamente a tempera- tura ritenuta normale e a temperatura compresa tra 2°-4°, il prodotto otte- nuto dal secondo sistema era molto migliore perchè più delicato, con pro-fumo di frutta, minore acidità ecc. Osterwalder (12) ha saggiato per una serie di lieviti la capacità a fermentare a temperatura bassa. Secondo detto autore l'indicata capacità è posseduta da pochissime specie le quali, con un lungo periodo di tempo possono produrre da un mosto col 12 % di zucchero anche il 6% di alcol. Kroemer e Krumbholz (13) adoperando un lievito - Winningen - hanno visto che a temperature oscillanti tra 11°-15° la fermentazione era completa in 38 giorni, tra 6°-10° si prolungava a 12-15 settimane mentre a temperatura di 3,5° anche dopo sei mesi la quantità di

alcol formata era molto scarsa. Porchet (14) ha svolto un interessante studio sulla biologia dei lieviti capaci di fermentare a bassa temperatura. È stato dimostrato che detta capacità è propria di alcune razze particolari di Sacch. ellipsoideus le quali mantengono questa caratteristica anche se vengono coltivate lungo tempo a 20°. La resistenza al freddo di queste razze non è quindi un adattamento passeggiero. Praticamente si è visto che questi frigolevures — sono capaci di fermentare a temperatura compresa tra 5° e 10° con rapidità molto maggiore dei lieviti comuni e pertanto essi possono utilmente essere impiegati per la fermentazione di mosti di frutta o di mosti d'uva nelle località o ambienti ove non è possibile riscaldare. Ricerche di Casale (15) hanno dimostrato che con lieviti resistenti al freddo è possibile ottenere buoni risultati nella preparazione di alcuni vini fini. Comparando i risultati ottenuti a temperatura di 20° e di 3° si osserva nel primo caso una fermentazione completa in 8 giorni e da 15 a 30 giorni nel secondo. I vini fermentati a bassa temperatura presentano un lieve maggior contenuto in alcol e una sensibile minore quantità di acidi volatili. Tarantola (16) ha fatto prove comparative usando lieviti resistenti al freddo, nella vinificazione del moscato di Asti, rispettivamente alle temperature di 16° e di 5°. Tra i due tipi di vino così ottenuti l'analisi non ha dimostrato sensibili differenze. Nette differenze invece sono apparse, e a vantaggio del vino ottenuto a fermentazione bassa, alla degustazione. I caratteri della spuma e la sua persistenza erano maggiori che per il vino ottenuto al 16°. Ma, osserva Tarantola, che questo maggiore grado di finezza non compensava certamente le maggiori spese sostenute per la refrigerazione. Riassumendo si può dedurre che è sufficientemente dimostrata l'esistenza di lieviti capaci di fermentare a temperature fortemente diverse e che pertanto la ricerca e l'individuazione di essi possa portare a reali vantaggi nella pratica enologica. Naturalmente la ricerca va eseguita entro limiti piuttosto ristretti di gradi di temperatura perchè l'impiego di impianti frigoriferi o calorifici eleva moltissimo, specie per la refrigerazione, il costo del prodotto e queste applicazioni potranno forse sussistere in casi e per prodotti del tutto particolari. Ma per la produzione normale del vino comune da pasto, perchè forse finora, soltanto per esso è dimostrato il reale utile impiego di culture pure, la ricerca di particolare culture saccaromicetiche capaci di fermentare a temperature comprese tra 10° e 25° riveste un'importanza pratica del tutto particolare.

* * *

Nelle presenti ricerche sono state usate 20 culture blastomicetiche isolate tutte da mosti d'uva in fermentazione meno lo stipite di Schizosaccharomyces Pombe che venne isolato dal laghbi tripolino.

Le culture usate. sono state le seguenti:

8 stipiti di Saccharomyces ellipsoideus. Hansen;

1 stipite di Saccharomyces ellipsoideus var. umbra. Castelli; 1 stipite di Saccharomyces ellipsoideus var. major. Castelli;

1 stipite di Saccharomyces uvarum. Beijerinck;

1 stipite di Saccharomyces Bayanus. Will;

1 stipite di Saccharomyces italicus. Castelli;

- 2 stipiti di Torulaspora Rosei. Guilliermond;
- 1 stipite di Schizosaccharomyces Pombe. Lindner;
- 1 stipite di Torulopsis pulcherrima. (Lindner) Saccardo;
- 2 stipiti di Pseudosaccharomyces apiculatus. (Rees) Klöcker;
- 1 stipite di Pseudosaccharomyces magnus. De' Rossi.

Il mosto usato era di uva bianca e proveniva dalla regione umbra. Esso appena ottenuto dalla spremitura fu arricchito di una certa quantità di zucchero, venne riscaldato e passato attraverso una reticella metallica a maglie sottili. Tenendo costantemente agitata la massa onde potesse essere distribuito uniformemente, fu versato in vasetti cilindrici della capacità di circa 300 cc. in ragione di 250 cc. per ciascun vasetto. I vasetti vennero infine tappati con cotone greggio e sterilizzati per 40' alla pentola di Koch. All'analisi, il mosto, presentò una gradazione zuccherina del 25,75 % e 12,20 per mille di acidità espressa come acido tartarico.

Vennero complessivamente preparati 120 vasetti che furono dapprima riuniti in 20 gruppi di sei ciascuno ed ogni gruppo fu seminato colla medesima cultura. Per l'insemenzamento mi sono valso di culture allestite su agar di malto di tre giorni a 25° portando in ogni vasetto un'ansata di patina microbica. Successivamente dei vasetti, opportunamente contrassegnati, furono fatti sei grandi gruppi di 20 ciascuno che furono posti rispettivamente alle seguenti temperature: 5.6 - 10.12 - 15.17 - 25 - 30 - 37°. Per gli ultimi tre gruppi le temperature erano ben definite poichè i vasetti vennero posti in termostati ben regolati, per gli altri tre gruppi i vasetti furono messi in diversi ambienti del laboratorio ove le temperature potevano oscil-lare entro due gradi.

L'entrata in fermentazione si verificò prontamente, cioè entro le 24 ore, per tutte le culture poste a 30° e 37°; per quelle messe a 25° la fermentazione si iniziò, per alcune culture, verso la trentesima ora e dopo 48 ore in tutti i vasetti si dimostrò evidente sviluppo di gas. Alle temperature comprese tra 15°-17°, la produzione di gas si iniziò, per alcune culture, dopo 48 ore e dopo 3 giorni tutti i vasetti erano in fermentazione. A 10°-12° invece soltanto dopo 5 giorni si iniziò, in alcuni vasetti, una leggera produzione di gas e dopo 10 giorni in tutte le culture era evidente una fermentazione più o meno forte. Alla temperatura compresa tra 5°-6° soltanto dopo 15 giorni si manifestò una fermentazione per le culture 6-31 e 377. Tutte le altre culture stentarono molto a porsi in fermentazione ed essa si presentò sempre molto stentata.

Le analisi chimiche sono state iniziate dopo 40 giorni ponendo in esame dapprima il contenuto dei vasetti posti a 37° e proseguite successivamente per le culture a 30 - 25 - 15.17- 10.12° e 5.6°; occorre però notare che dopo 40 giorni tutti i vasetti sono stati messi nell'ambiente ove la temperatura era di 5°-6°. Ho creduto opportuno agire in tale maniera anzichè aggiungere sostanze o eseguire trattamenti antisettici che forse avrebbero potuto influire modificando eventualmente i risultati analitici. In tal modo le culture poste a temperatura di 5°-6° hanno avuto un periodo d'incubazione maggiore di circa 12 giorni mentre tutte le altre sono state mantenute per periodi leg-

germente maggiori di 40 giorni, ma per questo spazio più o meno breve di tempo sono rimaste a 5° - 6° .

Le analisi chimiche eseguite sono state le seguenti: ricerca del grado alcolico, determinazione dell'acidità totale e volatile, ricerca dell'acetoina; i procedimenti analitici messi in opera corrispondono esattamente a quelli da me indicati nella già citata nota (¹).

I risultati ottenuti sono riassunti nella seguente tabella ove in una prima colonna è riportato lo stipite con l'indicazione numerica della collezione, in una seconda la specie blastomicetica con l'indicazione della località e dell'anno d'isolamento, infine seguono i dati analitici per tutte le temperature saggiate. L'acetoina non è stata determinata quantitativamente; a questo proposito il segno – ne indica l'assenza mentre i vari segni + ne stanno a rappresentare quantità progressivamente maggiori.

Con i valori della tabella sono stati costruiti i singoli grafici i quali ci danno in maniera più facile ed immediata l'andamento dei risultati analitici. Nei grafici sono riportate in ascissa le temperature ed in ordinata i valori dell'alcol, come linea intera, e dell'acidità volatile, come linea tratteggiata, la presenza o meno dell'acetoina è stata indicata coi segni + e – posti in basso. Non si è creduto opportuno riportare i valori del'acidità totale, mentre a rendere più dimostrativi i grafici medesimi, i valori dell'acidità volatile sono riportati come centuplicati. Pertanto, ad esempio, un valore in ordinata indicato come 10 sta a significare 10 % di alcol in volume ed un grammo per litro di acidità volatile.

* * *

Per potersi orientare sui dati analitici ottenuti ritengo necessario limitare dapprima l'esame della sola produzione di alcol negli stipiti di Sacchromyces ellipsoideus e in quelli da riportarsi a sue varietà.

Iniziando dalle basse temperature si osserva per le dette 10 culture che a 5°-6° non si è avuta, per nessun stipite, la massima produzione di alcol anzi essa si è mantenuta generalmente assai bassa e soltanto nello stipite 364 e maggiormente nella cultura 6 ha raggiunto valori ragguardevoli.

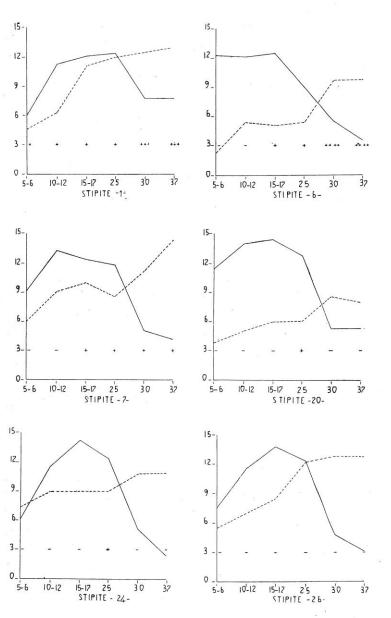
A temperature comprese tra 10° - 12° la produzione di alcol e stata abbastanza notevole ma soltanto per le culture 7 e 31 essa è stata la massima riscontrata. Lo stipite 6 ha dimostrato di produrre quantità pressocchè identiche di alcol alle temperature comprese tra 5° - 6° e 15° - 17° .

A 15°-17° si ha l'ottimo per la maggior parte delle culture; infatti su 10 di esse prese in considerazione ben sette hanno prodotto, a detta tempreratura, le maggiori quantità di alcol.

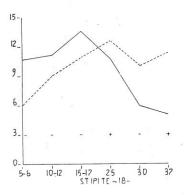
A temperatura di 25° soltanto lo stipite 1 ha dimostrato la massima capacità a produrre alcol, mentre tutti gli altri stipiti ne hanno prodotto meno e per alcune culture molto meno. Alla temperatura di 30° e maggiormente a quella di 37° la produzione alcolica appare molto limitata per tutti gli stipiti.

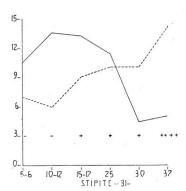
Per le altre specie da riportare al genere Saccharomyces si è visto che mentre per il Sacch. Bayanus la produzione alcolica è quasi identica per le temperature comprese tra 10°-12° e 25°, per Sacch. uvarum la temperatura più confacente si è dimostrata quella di 10°-12° e per Sach. Italicus di

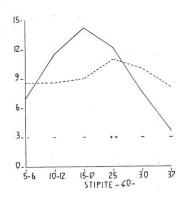
	Ter	Temperatura	ra 5°-6°		Temperatura 10°-12°	ura l	00-120	Tem	Temperatura	a 15°	15°-17°	Tem	Temperatura		25°	Ten	Temperatura	33	300	Temp	Temperatura	a 37°
calità e data 'isolamento	Alcol.	Ac. 101,	Ac. vol.	Alcol.	Ac. 101.	Ac. vol.	Acel.	Alcol.	Ac. 101,	Ac. vol.	Acel.	Alcol.	Ac. tot.	Ac, vol.	yest.	Alcol.	Ac. 101.	Ac. vol.	Acet.	Alcol.	Ac. vol.	Acet.
ch, ellipsoideus ibria, 1912	9	10,35 0,46		+ 11,2	,26 11	0,63	tracce	12,06	1,1	11,11	+	2,32	1,25 1,	1,20	+	7.70 1	11,80	.25	+	7,70 11,	1,80	++ 0
ch, ellipsoideus li Romani, 939	12,28	11,15,0,22		12,20	09,11,60	0,54	1	12,48	2 0,8	0,51 tr	tracce	9	1,25 0,	0,54 tr	tracce	5,48 1	11.30	76,0	1	3,50 11,	11,30 0,98	8
ch. ellipsoideus	9,22	10,95,0,60		- 13,26	10,50	0,91		12,48	11,25 0,9	0,98 tr	tracce 1	11.86 13	2 0,	0,86 tr	tracce	5,02	11,80	1,13	+	4,20 10,	10,85 1,43	100
ob, ellipsoideus bria, 1933	11,45	1,45 11,05 0,38		114	11,10	0,50		14,40	2 0,6	0,60	1	2,80	11,25 0,	0,61 tr	tracce	5,30 1	11	0,86	11	5,36 11	0,80	0
ch. ellipsoideus bria, 1933	6,16	10,95 0,74	7.4	-11,72	2 10,50	06,0	1	14,30	10,30,0,91	91	1	2,40 10	0,50 0,	0,91	+	5,10 1	10,25	1,08	I	2,70 10,	10,60 1,09	6
ch. ellipsoideus li Romani, 1939	7,62	7,62 11,70 0,55	55	11,56	6 10,55	02,0	1	13,80	10,30 0,85	85	Ī	2,32	1,05 1,	1,22	T	4,80	12	,28	T	3,08 12	1,27	
ch. ellipsoideus	10,66	0,66 10,55 0.61	- 19	11,20	0 10,70	16,0	1	13,58	11 1,0	1,08	Ī	10.76	10,80 1,	1,26 tr	tracce	6 1	11,70		T	5,30 12	1,13	3 tracce
ch, ellipsoideus anti, 1936	10,50	10,50 10,60 0,72	7.2	13,58	8 10,15	0,65	I	13,26 1	11,70 0,91	91	+	11,40 10	10.75 1,	1,04	+	4,40 1	11,10	1,05	+	5,08 10,	10,60 1,44	4+++
ch. el. v. umbra bria, 1933	7,03	7,02 11,95 0,86	98	11,62	2 11,20	0,87	1	14,30	12 0,80	06	1	2,20 1	11 1,	1,17	1	7,56 1	12	66,0	I	3,64 12	0.82	100
eh. el. v. major anti, 1936	11,30	11,30 11,50 0,68	88	12,30	D 12	0,82	1	13,58 1	11 0,91	91	T	9,90 10	0,75 0,	0,84 tr	tracce	5 1	111	0,95	+	4,56,11.	11,25 1,16	9
ch, Bayanus bria, 1933	86,9	6,98 11,70 0,44	14	12,40	0.43.	0,81	T	12,64	11,25 0,80	09	+	2,22	11,05 0,	0,72	+	5,16	10,90	0,82	+	4,28 11.	11,80 1,01	1 ++
ch. uvarum anti, 1936	11,72	10,10 0,72		- 12,15	5 11,95	0,46	Π	11,60	12 0,7	92,0	1	1,10 15	12 0,	0,45	1	5,06	11,09	0,43	+	4,05,11	11,85 0,43	3
ch, italicus anti, 1936	8,18	11,80 0,54	54	11,40	0 10,25	78,0		12,201	11,25 0,88	88	1	1,26 11	11,10 1,	1,18	T	4,62	11,25 1	1,15	1	3,36 12	1,14	4
isosucch, Pombe	1,60	10,20 0,33	333	8,58	8 10,20	1,28	+	12,94	9,75 1.2	.20	+++	2,70	9,65 1,	1,33	+	4,60	10,20	+32	+	4,60 10	10,50 1,31	1
ulaspora Rosei bria, 1933	9,50	9,50 01,70 0,08	- 80	-10,80	0 11	0,23		10,66	11,25 0.5	27	11	9,30 11		0.19	I	5,58 1	01,11	0,39		3,48 11.	11,20 0,46	9
ulaspora Rosei li Romani, 193	8,86	10,80 0,11	11	10,10	0 11	0,50	T	11,72	11,25 0,63	63	I	8,30 10	10,40 0,	0,54		5,30 1	09'01	08'0	1	2,82 10.	10,95 0,62	51
ol. pulcherrima bria, 1933	2,82	2,82 11,25 0,14	14	3,36	6 10,80	0,16	1	4,04	10,50 0,32	32	1	3,10 10	10,20 0,27	27		2,68	0,30	0,43	1	1,86,10	10,65 0,39	6
udosacch. ma- s. Umbria, 1933	7,50	7,50 10,10 0,49 +	11 61	8,02	2 10	0,68	1++	8.86	9,90 0,7	0,76	1++	7,10	10.10 0,74	74	1	5,86	10,05	0,49	1	1,46 10	10,95 0,31	1
adosacch, apicu-	2,54	2,54 11,40 0,58	- 29	4,60	0 10,05	1,10	tracce	6,70	11,20 1,19	18	#	5,20 11	11,10 0,91	9.1	‡	3,68 1	11,60	0,87	‡	0,60 10	10,80 0,73	3
adosacch, apicu-	3,60	3,60 10,50 0,56		+ 4,8	4,88 11,25 1,05 tracce	1,05	tracce	4,32	4,32 10,70 1,08	80	#	5,42 11,70 0,90	1,70 0,	06	+	3,36 1	11 1	1,01	+	1,26 10,80 0,87	8,0 08,	2

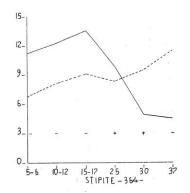


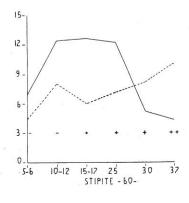
14 -

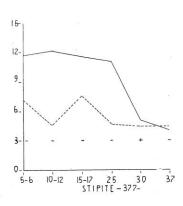


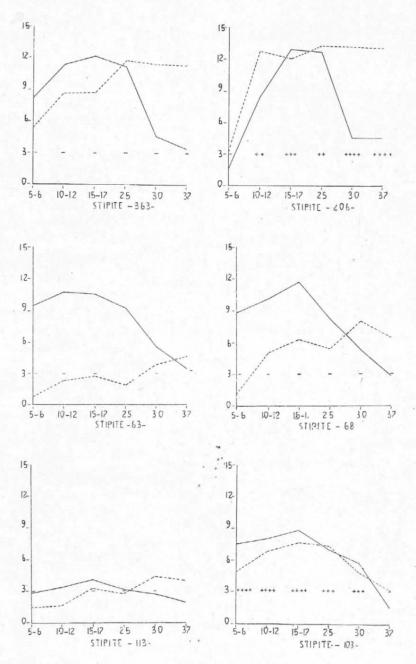


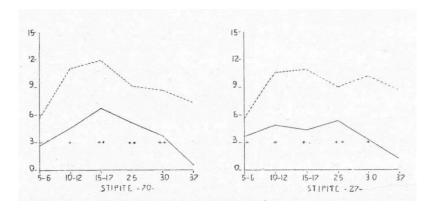












15°-17°. L'ottimo per Schizosacch. Pombe si deve considerare tra 15°-17° e 25°. Circa i due stipiti di Torulaspora Rosei, uno ha prodotto più alcol a 15°-17° mentre l'altro dimostra preferenze per temperature più basse e cioè 10°-12°. Torulopsis pulcherrima e Pseudosacch. magnus hanno dimostrato che la temperatura migliore era quella di 15°-17°. Per i due stipiti di Pseudosacch. apiculatus si è notato per uno l'ottimo a 25° e per l'altro a 15°-17°.

Anche per l'acidità volatile voglio prima limitare i confronti ad i soli stipiti da riportarsi a Sacch. ellipsoideus o a sue varietà. Si osserva così che la linea dell'acidità volatile cresce coll'aumentare della temperatura e che generalmente le più forti quantità di acidi volatili si riscontrano per le temperature più elevate. Soltanto per lo stipite 40 è risultato che la più forte produzione di acidi volatili si riscontra a 25°. Ma ciò che è del massimo interesse osservare è la diversa quantità di acidità volatile prodotta dai singoli stipiti. Così ad esempio mentre gli stipiti 20 e 6 dimostrano scarsa capacità a produrre acidi volatili, specie se vengono presi in considerazione i risultati ottenuti alle temperature fino a 25°; vi sono d'altronde altri stipiti come l'1, il 26, il 24 e il 40 che ne producono quantità notevoli anche a temperature relativamente basse. Si può affermare quindi che i singoli stipiti appartenenti alla stessa specie Sacch. ellipsoideus sono capaci di produrre quantità sensibilmente diverse di acidi volatili pur notandosi generalmente che dette quantità aumentano col crescedere della temperatura di fermentazione.

Per le altre specie da riportarsi al genere Saccharomyces si è notato che mentre il Sacch. Bayanus e il Sacch. italicus hanno un comportamento analogo a quello dimostrato dal Sacch. ellipsoideus, il Sacch. uvarum mostra un comportamento assai diverso; in questa specie le quantità di acidi volatili formate non risentono dell'azione della temperatura, anzi alle temperature elevate corrispondono quantità più modeste di acidità volatile.

Lo stipite di Schizosacch. Pombe ha dimostrato di produrre quantità molto notevoli di acidi volatili e che esse aumentano parallelamente col crescere della temperatura. I due stipiti di Torulaspora Rosei hanno prodotto quantità diverse di acidi volatili, l'intensità di produzione sembra anche

qui seguire l'elevazione della temperatura, in ogni modo le quantità formate, specialmente prendendo in considerazione lo stipite 63, appaiono molto limitate.

I lieviti apiculati dimostrano, nella produzione di acidità volatile, un andamento assai caratteristico. Sia considerando i due stipiti da riportarsi a Pseudosacch. apiculatus come il Pseudosacch. magnus, si è osservato che la linea indicante la produzione dell'acidità volatile segue fedelmente quella della produzione alcolica, cioè essa mentre è bassa a temperatura di 5°-6° aumenta sensibilmente per raggiungere il massimo a 15°-17° per poi decrescere a temperature più elevate. Tra le due specie di apiculati si nota che le forme da riportarsi a Pseudosacch. apiculatus producono, concordemente a quanto è stato da altri osservato (17), quantità di acidi volatili assai più forti di quelle fornite da Pseudosacch. magnus. Lo stipite di Torulopsis pulcherrima dimostra capacità a formare quantità limitatissime di acidi volatili che sembra aumentino col crescere della temperatura di fermentazione.

Anche ora, come precedentemente si era osservato, le quantità di acidi volatili riscontrate appaiono piuttosto elevate, è probabile che in parte ciò dipenda dall'elevata concentrazione zuccherina del mosto.

In ricerche precedenti si è dimostrato che forse tra la produzione di acetoina e la genesi dell'acidità volatile esisteva qualche rapporto (18), in altre indagini successive si è osservato che pur notandosi generalmente che l'acetoina era presente nei materiali fermentati ad alto contenuto di acidi volatili esistevano liquidi con bassa acidità volatile e forte contenuto di acetoina ed altri nei quali a forti quantità di acidi volatili non corrispondeva formazione di acetoina.

Le presenti ricerche portano un po' più di chiaro sull'interessante argomento. Così ad esempio, nelle precedenti ricerche, era stato osservato che l'acetoina nei mosti fermentati da Sacch. ellipsoideus era nulla o presente in minime tracce, queste indagini dimostrano invece chiaramente che la produzione di acetoina è profondamente diversa nei singoli stipiti. Ritengo necessario avvertire però che per le indagini precedenti venne usato costantemente lo stipite 20 il quale anche presentemente ha fornito il medesimo reperto. Delle 10 culture da riportarsi a Sacch. ellipsoideus o a sue varietà, tutte hanno formato quantità più o meno sensibili di acetoina meno lo stipite 26 per il quale detto chetoalcol non è stato mai riscontrato. Vi sono alcuni stipiti come l'1% ove l'acetoina si forma in qualsiasi condizione sperimentata pur presentandosi in maggiore quantità a temperature elevate; un quasi analogo comportamento, rispetto allo stipite l, mostrano gli stipiti 31 e 6 ove l'acetoina è risultata mancante soltanto per le temperature di fermentazione di 5°-6° e 10°-12°. Gli altri stipiti infine dimostrano di produrre piccole quantità di acetoina e per temperature di fermentazione generalmente elevate. In complesso si nota un parallelismo tra produzione di acetoina e acidità volatile in quanto la prima cresce coll'aumentare della seconda. Anche qui però il fatto non si può generalizzare e dimostrazione evidente è il comportamento dello stipite 26 nel quale a quantità abbastanza elevate di acidità volatile non corrisponde formazione di acetoina.

Per le altre specie di Saccharomyces i risultati ottenuti sono molto diversi.

Così mentre per Sacch. Bayanus la produzione di acetoina è molto simile a quanto si è notato per Sacch. ellipsoideus, in Sacch. uvarum, nel quale la produzione di acidi volatili è assai limitata, l'acetoina è stata riscontrata soltanto a temperatura di 30° e in piccole quantità. Infine Sacch. italicus mostra un comportamento del tutto identico allo stipite 26 del Sacch. ellipsoideus; cioè anche in questa specie l'acetoina non è stata mai riscontrata nemmeno in tracce pur notandosi acidità volatile piuttosto forte specialmente per temperature di fermentazione elevate.

I due stipiti di Torulaspora Rosei e la Torulopsis pulcherrima hanno confermato quanto era stato visto in precedenza. Queste specie non sono capaci di formare acetoina e la produzione di acidità volatile appare generalmente assai limitata. Disponendo in laboratorio di una serie di stipiti dei due blastomiceti verranno condotte ulteriori più vaste indagini in proposito.

Per lo stipite di Schizosacch. Pombe sembra esistere un parallelismo perfetto tra acidi volatili e acetoina; infatti quest'ultima manca nel liquido fatto fermentare a bassa temperatura ove la quantità di acidità è molto bassa e si fa man mano più forte alle temperature più elevate alle quali l'acidità volatile aumenta sensibilmente.

Tra i lieviti apiculati, la specie indicata come Pseudosacch. apiculatus forma sensibili quantità di acidità volatile e discrete di acetoina e tra questi composti è evidente una certa dipendenza. Infatti l'acetoina non è stata riscontrata o è stata trovata soltanto in tracce quando l'acidità volatile era molto bassa, precisamente ciò si è verificato per temperature di fermentazione piuttosto basse o molto elevate. Infine Pseudosacch. magnus mostra un comportamento del tutto particolare. Questa specie si è dimostrata capace di formare molto grandi quantità di acetoina meno che per la temperatura di fermentazione di 37° alla quale non è stata riscontrata. Per contro a queste forti quantità di acetoina corrisponde un'assai limitata produzione di acidità volatile.

Dal complesso del lavoro eseguito si possono trarre diverse conclusioni che qui riassumo.

- l) Sono state eseguite indagini chimiche su liquidi provenienti da un medesimo mosto posto a temperature molto varie e seminato con 20 diversi stipiti di blastomiceti.
- 2) L'inizio della fermentazione è rapido per tutte le culture alle temperature elevate ed esso ritarda col diminuire della temperatura. A temperature molto basse, di 5°-6°, la fermentazione si manifesta tardivamente e viene proseguita molto stentatamente.
- 3) La produzione di alcol è fortemente diversa nelle varie specie e nelle diverse varietà e razze appartenenti ad una medesima specie.
- 4) Le maggiori produzioni di alcol sono state riscontrate generalmente per temperature di fermentazione di 15°-17°, pur notandosi in alcune specie, varietà e razze che l'ottimo della produzione alcoligena era alla temperatura di 10°-12° o di 25°.
- 5) Le produzioni di acidità volatile sono fortemente diverse nelle singole specie e anche in seno alle diverse varietà e razze del Sacch. ellipsoideus.

A temperature basse le quantità di acidi volatili appaiono assai limitate; esse aumentano col crescere della temperatura ma, mentre nelle razze e varietà del Sacch. ellipsoideus l'acidità volatile aumenta anche a temperatura elevata, per i lieviti apiculati essa raggiunge il suo massimo a temperatura di 15°-17° e poi tende a decrescere.

- 6) La produzione di acetoina è molto varia nelle singole specie. I lieviti apiculati, specialmente nella specie Pseudosacch. magnus, lo Schizosacch. Pombe, formano quantità notevoli di detto chetoalcol; per contro gli stipiti di Torulaspora Rosei e la Torulopsis pulcherrima non ne formano mai.
- 7) Le singole varietà e razze di Sacch. ellipsoideus hanno attitudine molto diversa a formare acetoina. Alcuni stipiti ne producono soltanto in tracce più o meno sensibili, altre quantità più forti, mentre per uno stipite l'acetoina non si è mai riscontrata.
- 8) La produzione di acetoina ha generalmente un andamento parallelo a quello dell'acidità volatile. Infatti nelle forme da riportarsi a razze o varietà del Sacch. ellipsoideus l'acetoina aumenta col crescere della temperatura mentre nei lieviti apiculati essa aumenta fino a temperature di 25° e poi decresce.
- 9) Si conferma dunque il fatto già osservato altre volte che nei liquidi contenenti forti quantità di acidi volatili si riscontrano notevoli produzioni di acetoina pur notandosi delle specie nelle quali a quantità molto elevate di acidità volatile non corrisponde formazione di acetoina e altre nelle quali a formazione elevate di acetoina, riscontrate a tutte o a quasi tutte le temperature saggiate, corrispondono quantità relativamente basse di acidi volatili.
- 10) Si conclude pertanto che il chimismo dei blastomiceti è molto diverso nelle singole specie ed in seno alle varietà o alle razze di una medesima specie e che esso è variamente influenzato dalla temperatura alla quale si svolge il fatto fermentativo.
- 11) I risultati ottenuti dimostrano chiaramente che la pratica enologica si può sensibilmente avvantaggiare dall'uso di stipiti diversi di Sacch. ellipsoideus, e forse anche di altre specie saccaromicetiche, per la formazione di mosti-lieviti da vinificazione da usarsi in zone con caratteristiche ambientali molto diverse.

RIASSUNTO

Vengono riferiti i risultati ottenuti facendo fermentare a varie temperature uno stesso mosto seminato con 20 diversi stipiti di blastomiceti. Si è osservato che il chimismo è fortemente diverso non soltanto nelle singole specie ma anche in seno alle varietà e razze appartenenti ad una medesima specie e che esso è variamente influenzato dalla temperatura di fermentazione. Si conclude che la pratica enologica può sensibilmente giovarsi di speciali stipiti di Sacch. ellipsoideus, e forse anche di altre specie di saccaromiceti, per la formazione di mosti-lieviti da vinificazione da usarsi in zone con caratteristiche ambientali molto differenti.

ZUSAMMENFASSUNG

Verfasser berichtet über die Resultate die er mittels der Gärung bei mehreren Temperaturen eines gleichen, mit 20 verschiedenen Blastomycetehstämmen beimpften Mostes erhalten hat. Es ist beobachtet worden, dass der Chemismus nicht nur für die einzelnen Arten sehr verschieden ist sondern auch für Sorten und Rassen die ein und derselben Art angehören und dass derselbe von der Gärungstemperatur verschiedenartig beeinflusst wird.

Verfasser schliesst, dass die oenologische Praxis aus der Anwendung besonderer Stämme des *Sacch. ellipsoideus*, und vielleicht auch anderer Saccharomycetenarten, bei der Erzeugung der Most- Hefen (wdche zur Weinstellung in Gegenden mit sehr verschiedenen ambientalen Bedingungen dienen sollen) einen grossen Nutzen ziehen kann.

BIBLIOGRAFIA

- (l) Castelli Indagini chimiche sui blastomiceti. « Ann. di Microbiologia », vol. I, fase. 6, 1941.
- (2) *Ventre* Les levures en vinification. « Ann. des fermentations », t. 2, n. 5, 1936.
- (3) *De' Rossi* I lieviti della fermentazione vinaria nella regione umbra. Rel. IV^a Congr. Int. della vigna e del vino Lausanne 1935.
- (4) Castelli I lieviti della fermentazione vinaria nel Chianti classico e zone limitrofe. « Nuovi Annali dell'Agricoltura », Anno XIX, 1939.
- (5) Castelli Ancora sugli agenti della fermentazione vinaria nel Chianti classico. « Nuovi Annali dell'Agricoltura », Anno XIX, 1939.
 - (6) Santarelli Ricerche di prossima pubblicazione.
- (7) Ravizza Sull'influenza della temperatura e della concentrazione del mosto sulla fermentazione. «Le Staz. Sper. Agrar. », v. XIX, fasc. II, 1890.
- (8) Fonseca Influenza della temperatura sulla fermentazione alcolica. « Le Staz. Sper. Agrar. », vol. XXI, fase IV, 1891.
- (9) Müller Thurgau citato da De' Rossi in « Microb. Agrar. e Tec. », pag. 506, U.T.E.T. 1927.
 - (10) Mensio e Forti « Enologia », pag. 43, U.T.E.T. 1928.
- (11) Briganti, Rossi e Ulpiani La vinificazione bassa. « Ann. di Tec. Agrar. », Anno VI, fase. IV, 1933.
- (12) Osterwalder Von Kaltgärhefen und Kaltgärung. « Zent. für Barkt », 2 Abt., Band. 90, n. 9-13, 1934.

- (13) Kroemer e Krumbholz Beobachtungen uber Kaltorganismen von Obstund Traubenmosten. « Landw. Jahrb », 1930.
- (14) Porchet Biologie des levures provoquant la fermentation alcoolique a basse température. « Ann. des fermentations », t. IV, n. 10, 1938.
- (15) Casale Esperienze di fermentazione a bassa temperatura. X° Congr. Int. de Quimica pura y aplicada Madrid 1934.
- (16) *Tarantola* La preparazione dell'Asti Spumante con la fermenta-zione a bassa temperatura. « L'Italia Agricola », Anno 74, n. 4, 1937.
- (17) *De' Rossi* I lieviti apiculati della fermentazione vinaria. «Le Staz. Sper. Agrar. », vol. 53, 1920.
- (18) *Antoniani, Candia* e *Castelli* Contributi alla conoscenza del chimismo fermentativo dei lieviti apiculati. « Ann. di Microbiologia », vol. I, fasc. III, 1941.