

Condensazione acetoinica e “potere fermento,, dei lieviti alcolici

Prof. Claudio Antoniani (Direttore)

(Ricevuto il 27-12-1943-XXI)

La condensazione acetoinica dell'aldeide etilica è indubbiamente un processo biochimico di notevole significato sotto vari aspetti, in parte già illustrati in precedenti lavori ¹⁾. Essa sembra svolgersi quale reazione appendicolare in tutti i processi di fermentazione alcolica, probabilmente, anzi, in tutti i processi di demolizione glucidica nei quali la decarbossilazione dell'acido piruvico figura come passaggio obbligato. Se essa sia fine a sè stessa, oppure tappa intermedia di particolari processi di resintesi, ancora non sappiamo; abbiamo però dimostrato che nel corso dell'attività fermentativa essa si stabilizza per taluni lieviti allo stadio di acetilmetilcarbinolo (AMC), mentre per altri la formazione di AMC non si osserva, e il processo di condensazione si stabilizza in corrispondenza della fase più ridotta di 2-3-butilenglicole (BG). In questa diversità di fisionomia che il processo di condensazione acetoinica è suscettibile di assumere, abbiamo ritenuto di poter scorgere un indice di misura del « potere fermento » dei vari lieviti alcolici, inteso quest'ultimo come attitudine del lievito a metabolizzare la molecola glucidica esclusivamente per il tramite della via fermentativa, cioè senza alcun ausilio energetico da parte di processi ossidativi di tipo respiratorio implicanti l'intervento di ossigeno libero.

E' noto che il « potere fermento » così definito non è uguale per tutti i lieviti. Vi sono lieviti il cui bilancio fermentativo si sposta in misura cospicua dall'equazione classica che traduce l'andamento ideale del processo, e ciò per lo più si deve al sovrapporsi di processi ossidativi la cui comparsa rappresenta per il lievito una necessità fisiologica: l'apporto energetico della fermentazione alcolica non sopperisce al complesso dei fabbisogni vitali e il lievito è perciò costretto a deviare parzialmente il suo metabolismo verso la demolizione a tipo respiratorio. Ve ne sono altri, per contro, che di questo ausilio energetico non hanno bisogno, non solo, ma che dal puro processo fermentativo ritraggono anche un'eccedenza di disponibilità energetica, che possiamo commisurare dall'entità del potere riducente che è proprio delle loro fermentazioni. Possiamo quindi dire *che quanto più intensa è la eccedenza di attività riduttrici di un mosto in fermentazione, tanto più spiccato è il « potere fermento » del lievito che in quella fermentazione agisce*. La misura di questa eccedenza di attività riduttrici non può, d'altra parte, essere eseguita per il tramite di reattivi aggiunti dall'esterno, dato che essa presuppone il totale rispetto del complesso di equilibri ossidoriduttivi che sono propri dell'indirizzo fermentativo in atto, senza di che sarebbe evidentemente

illusoria; ma può invece realizzarsi quando, come indice di questa eccedenza, si scelga uno degli equilibri stessi del normale metabolismo fermentativo, e tale è appunto il caso dell'equilibrio AMC \rightleftharpoons BG.

Ho già riferito altrove ¹⁾, e sotto altro aspetto, sui primi risultati forniti dall'indagine da me intrapresa sulla base del criterio ora esposto. Comunico qui qualche altro dato.

Nel gruppo di lieviti con eccedenza di « potere fermento », che appaiono cioè caratterizzati dalla facoltà di ridurre immediatamente e totalmente l'AMC a BG nel corso della loro attività fermentativa, rientrano, per quanto è stato sino ad ora assodato, preponderatamente i lieviti del genere *Saccharomyces*; nel gruppo caratterizzato da deficienza di « potere fermento » vengono invece ad inserirsi numerose forme di lieviti che dai saccaromiceti tipici si discostano per l'abito fermentativo o per le caratteristiche fisiomorfologiche, come appare dal prospetto seguente.

Lieviti con eccedenza di « potere fermento »

1. *Saccharomyces ellipsoideus* - stipite 24
2. idem idem - stipite 100
3. idem idem - stipite 36
4. idem *italicus* Castelli
5. idem *ellipsoideus* - var. *major* Castelli
6. idem *oviformis* - var. *bisporus* Castelli
7. idem *Pastorianus* Hansen
8. idem *anamensis* Will e Heinrich
9. idem *cerevisiae* - stipite di Hansen
10. *Zygosaccharomyces globiformis* - stipite 58
11. *Torulospira tosei* - stipite 63

Lieviti con deficienza di « potere fermento »

1. *Pseudosaccharomyces apiculatus* - stipite 10
2. idem idem - stipite 70
3. idem *magnus* - stipite 103
4. *Saccharomycodes bisporus* Castelli
5. idem Ludwigi Hansen
6. *Saccharomyces Pombe* Lindner
7. idem *octosporus* Beijerinck
8. *Zygosaccharomyces sp.* - stipite 49
9. *Torulopsis pulcherrima* Lindner (Saccardo)

Un'osservazione va fatta a proposito di *Saccharomyces cerevisiae*. Non tutti i lieviti di questa specie condividono il comportamento fornito da *Sacch. cerevisiae* Hansen, classificandosi tra i lieviti con eccedenza di « potere fermento ». Ve ne sono di quelli in cui la formazione di BG è preceduta dalla formazione di AMC, pei quali si può cioè parlare di una fisionomia mista, fermentativo-respiratoria, variabile a secondo dello stadio della fer-

¹⁾ Lavori citati in calce.

mentazione, e quindi di un «potere fermento» intermedio. Questo comportamento è stato riscontrato in due stipti di *Sacch. cerevisiae* isolati da lievito compresso del commercio ed è perfettamente comprensibile se riconnesso al fatto noto che in questi particolari tipi di lievito, di cui la riproduzione viene accelerata con l'arieggiamento, la funzione respiratoria si esalta a detrimento di quella fermentativa. Il fatto, anzi, che per questi lieviti si sia rilevato un «potere fermento» ridotto, sta a denotare la effettiva rispondenza del parametro analitico da me scelto per la sua valutazione.

Oltre ai due stipti ora citati di *Sacch. cerevisiae* rientrano nel gruppo a «potere fermento» intermedio alcuni altri lieviti a loro volta caratterizzati dalla facoltà di accumulare, contemporaneamente o successivamente l'uno all'altro, sia l'AMC che il BG. Ecco quelli sino ad ora catalogati,

Lieviti a «potere fermento» intermedio

1. *Saccharomyces validus*
2. idem *paradoxus* Batschinskaia
3. idem *uvarum* Beijerinck
4. idem *Chevalier* var. *torulosus*.
5. idem *cerevisiae* - stipte 410
6. idem idem - stipte 1
7. *Pseudosaccharomyces africanus*

L'AMC si forma sempre in corrispondenza dei primi stadi della fermentazione, esso va poi gradatamente scomparendo e in sua vece compare il BG, il quale rappresenta pertanto l'unico prodotto, praticamente dosabile, della condensazione acetoinica, alla fine del processo fermentativo. In qualche caso, come quello del *Sacch. uvarum* *Beijerinck*, l'AMC può persistere in quantità notevole anche a fermentazione alcolica ultimata; il BG si sovrappone ad esso.

Vi è infine una quarta categoria di lieviti caratterizzati dal fatto di non dare né acetoina né glicol nel corso della loro normale attività fermentativa. Categoria di notevole interesse sotto molti aspetti, ed in particolar modo per quanto riguarda la conoscenza del meccanismo secondo cui si compie la condensazione acetoinica. Se dovesse risultare che in questi lieviti la mancanza sia di AMC che di BG in ogni stadio fermentativo è dovuta al non manifestarsi del processo di condensazione aciloinica dell'aldeide acetica, verrebbe infatti automaticamente a cadere la interessante ipotesi di Dirscherl-Langenbeck, la quale come è noto concepisce detta condensazione come una consecuzione spontanea della decarbossilazione dell'acido piruvico. Se questo sia il caso, o se pure l'AMC o il BG si formino, ma per essere subito ulteriormente metabolizzati, è da stabilirsi. La caratteristica di non dar luogo ad accumulo alcuno né di AMC né di BG è stata sino ad ora riscontrata solo in due stipti di *Hansenula*.

Lieviti nei quali non si osserva né formazione di AMC né formazione di BG

1. *Hansenula panis* - stipte 51
2. *Hansenula nivea* - stipte 52

Il numero degli stipti si riferisce alla collezione dell'Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università di Perugia, dal quale ci vennero cortesemente forniti i lieviti.

Per la parte metodica rimandiamo agli altri nostri lavori sull'argomento.

RIASSUNTO

Considerazioni sul « potere fermento » dei lieviti alcolici e sulla possibilità della sua misura dall'indice di equilibrio acetoina ↔ glicol di mosti in fermentazione.

Esposizione dei primi risultati forniti dall'indagine compiuta secondo questo criterio su una serie di lieviti di coltura pura.

ZUSAMMEFASSUNG

Bericht über das « Ferment-Vermögen » der alkoholischen Hefen und über die Möglichkeit einer Abmessung der vergärenden Moste mittels dem Gleichgewichts-Index: Acyloin-Glycol.

Es werden in der Folge die ersten Resultate dargelegt welche aus den in diesem Sinne ausgeführten Forschungen, bei einer Reihe reiner Kulturhefen erhalten worden sind.

BIBLIOGRAFIA

(1) *C. Antoniani* e *S. Gugnioni* - La condensazione aciloinica nei lieviti apiculati e nei lieviti ellittici. (Biochim. e Ter. Sperim. Vol. XIX, fasc. III, 1941).

C. Antoniani, *S. Gugnioni* e *P. Scrivani* - Ib. ib. Nota 2^a (Biochim. e Ter. Sperim. Vol. XIX, fasc. IV, 1941).

C. Antoniani, *S. Gugnioni* e *P. Scrivani* - Il processo di condensazione acetoinica nella fermentazione del *B. coli* (Biochim. e Ter. Sperim. Vol. XIX, fasc. V, 1941).

C. Antoniani - Sul processo di condensazione acetoinica. (Biochim. e Ter. Sperim. Vol. XIX, fasc. IX, 1941).

C. Antoniani e *S. Gugnioni* - L'acetilmetilcarbinolo nei vini. (Ann. di Chim. Appl. Vol. 31, fasc. 10, 1941).

C. Antoniani, *A. Candia*, *T. Castelli* - Contributo alla conoscenza del chimismo fermentativo dei lieviti apiculati. (Ann. Micr. Vol. I, fasc. III, 1941).

C. Antoniani e *T. Castelli* - Il rapporto acetoina-glicol nelle fermentazioni associate di *Sacch. ellipsoideus* + *Pseudosacch. apiculatus* e di *Sacch. ellipsoideus* + *pseudosacch. magnus*. (Ann. Micr. Vol. II, fasc. II, 1942).

C. Antoniani - La condensazione acetoinica nei lieviti alcoolici. (Biochim. e Ter. Sperim. Vol. XX, fase VI, 1942).

C. Antoniani e *C. Sempio* - Alcune osservazioni preliminari sul chimismo fermentativo di due « *Fusarium* » in relazione con la loro diversa virulenza. (Rivista di Biologia. Vol. XXXIII, 1942).

C. Antoniani - Sulla natura del processo biochimico di condensazione acetoinica. (Ann. di Chim. Appl. Vol. XXXII, fasc. VIII, 1942).