

## Sul fenomeno di autoimpedimento fermentativo - Osservazioni sull' *Hansenula panis*

C. Antoniani

(Ricevuto il 17 Aprile 1943-XXI)

Per quanto in modo assai meno spiccato e spesso più coi caratteri di un graduale smorzamento che non di un vero e proprio arresto della fermentazione, il fenomeno dell'autoimpedimento fermentativo si manifesta anche in talune specie di *Hansenule*. Nell'*Hansenula panis*, isolata dal Castelli (1) da lieviti casalinghi di panificazione e da questi descritta nei suoi principali caratteri morfo-fisiologici, ho potuto riscontrarne un esempio abbastanza tipico. L'*Hansenula* in oggetto, seminata in mosto d'uva col 17,9 % di zucchero, entra rapidamente in fermentazione. Ma non produce più del 4 % circa di alcol in volume, tenore al quale giunge in genere dopo una quindicina di giorni di attività fermentativa. Il fatto che il contenuto in alcol non aumenti oltre il detto limite non significa per altro che da questo stadio in poi lo zucchero cessa a sua volta dall'essere fermentato: per quanto con velocità gradualmente decrescente, il suo attacco continua per parecchio tempo ancora e solo dopo una trentina di giorni la fermentazione praticamente si estingue, mentre persiste nel mosto una frazione cospicua dello zucchero originario.

La fermentazione dell'*Hansenula panis*, oltre che dar luogo alla formazione di quantità sensibili di acidi volatili che in buona parte vengono poi esterificati, è caratterizzata da una produzione di CO<sub>2</sub> nettamente superiore al teorico calcolabile per la fermentazione alcolica normale, e da un rendimento in alcol che è, viceversa, press'a poco la metà del teorico; ciò dimostra che non siamo di fronte a un processo fermentativo unico a fisionomia deviata, ma ad un processo misto: alla fermentazione alcolica si sovrappone un processo ossidativo gravante essenzialmente sull'alcol, processo, quest'ultimo, che è del resto noto da tempo e proprio di quasi tutte le *Hansenule*. Il fenomeno dell'autoimpedimento, nell'*Hansenula panis*, è quindi in un primo tempo soltanto apparente e risiede nel fatto che la velocità di ossidazione dell'alcol eguaglia quella del processo di fermentazione alcolica dello zucchero; solo più tardi il fatto della persistenza di una certa quantità di zucchero fermentescibile inattaccato, attesta il reale manifestarsi di questo fenomeno.

*L'aggiunta di CaCO<sub>3</sub> al mosto d'uva consente di ottenere una relativamente rapida e completa fermentazione dello zucchero, e di innalzare altresì, in corrispondenza dei primi stadi della fermentazione, il rendimento fer-*

*mentativo dell'Hansenula panis sino al suo valore teorico. A parte l'evidente diversità che intercorre tra il chimismo fermentativo globale dei due lieviti, si verifica cioè, in sostanza, per l'Hansenula panis lo stesso fatto dello sbloccamento fermentativo che ho descritto per lo Pseudosaccharomyces apiculatus (2).*

Circa il meccanismo secondo cui questo sbloccamento si manifesta, il fatto che l'aggiunta di  $\text{CaCO}_3$  valga a riportare al suo valore teorico il rendimento in alcol della fermentazione, denota evidentemente che in queste condizioni viene a mancare il processo di ossidazione che nel mosto d'uva naturale, acido, grava sull'alcol etilico. Che il rendimento fermentativo sia pari al teorico solo nei primi stadi della fermentazione in presenza di  $\text{CaCO}_3$  e che successivamente esso si riabbassi di parecchio, non toglie valore a questa conclusione, poichè, come già si è dovuto ammettere nel caso dello sbloccamento della fermentazione di *Pseudosaccharomyces apiculatus*, è fondato ammettere anche qui il successivo reintervento dell'azione ossidativa in conseguenza del graduale ripristinarsi di un certo grado di acidità. Il pH nelle fermentazioni in presenza di  $\text{CaCO}_3$ , passa infatti da un valore iniziale di 6,6 a un valore finale di 5,8. Di diverso, rispetto a quanto avviene nel caso dello *Pseudosaccharomyces apiculatus*, non ci sarebbe quindi che questo: che malgrado la parziale riacidificazione che si manifesta nel substrato, l'aggiunta di  $\text{CaCO}_3$  al mosto è sufficiente a rimuovere totalmente l'impedimento fermentativo dell'*Hansenula*, mentre non basta che a rimuovere parzialmente l'autoimpedimento dello *Pseudosaccharomyces apiculatus*. Ciò significa, e la cosa è in accordo anche con la diversa manifestazione esteriore dei due fenomeni, che l'autoimpedimento dell'*Hansenula* è meno energico di quello del lievito apiculato.

Ma nei riguardi della modificazione di comportamento fermentativo a cui l'*Hansenula panis* soggiace per effetto dell'aggiunta di  $\text{CaCO}_3$  al mosto, c'è un altro fatto molto significativo da tener presente. Nella fermentazione dell'*Hansenula* su mosto d'uva naturale, acido, non è in alcun modo palese che una frazione sia pure piccola dell'aldeide acetica generantesi come prodotto intermedio soggiaccia al processo di condensazione acetoinica, processo che viceversa, come risulta dalla serie ormai numerosa di ricerche da me compiute al riguardo, si verifica sempre come manifestazione collaterale della fermentazione alcolica. Sotto questo aspetto, quindi, l'*Hansenula panis* costituisce un'eccezione, e come tale l'ho già segnalata (3). *Sta però di fatto che l'aggiunta al mosto di  $\text{CaCO}_3$ , vale a rendere manifesto anche il processo di condensazione acetoinica dell'aldeide acetica.* L'aggiunta di  $\text{CaCO}_3$  modifica quindi in qualche cosa quella parte del chimismo intermedio della fermentazione alcolica dell'*Hansenula panis* che è in relazione col processo di condensazione acetoinica. Io penso, e l'ho già detto altrove, che il manifestarsi del processo di condensazione acetoinica in presenza di  $\text{CaCO}_3$  sia la risultante di un mutamento nel complesso di equilibri di ossidoriduzione in cui è interessata l'aldeide acetica, ma comunque stiano le cose a questo riguardo, un fatto è certo, ed è che in presenza di  $\text{CaCO}_3$  la fermentazione alcolica dell'*Hansenula panis* acquista normalità di andamento non solo in quanto appare libera dall'impedimento fermentativo, ma anche in quanto si rende manifesto collateralmente ad essa quel processo di condensazione

L'ANDAMENTO DELLA FERMENTAZIONE DI HANSENULA PANIS IN ASSENZA ED IN PRESENZA DI CaCO<sub>3</sub>

Substrato: cc. 150 di mosto d'uva come tale - zucchero totale 17,90% - acidità totale come acido tartarico 9,25 per mille						Substrato: cc. 150 di mosto d'uva addizionato di g. 10 di CaCO <sub>3</sub> - Zucchero totale 17,90%					
Tempo dall'inizio della fermentazione	pH	Zucchero fermentato	alcol % in volume		Tempo dall'inizio della fermentazione	pH	Zucchero fermentato	alcol % in volume			
			calcolato	trovato				calcolato	trovato		
2 giorni	3,35	3,10	2,00	1,85	24 ore	6,60	1,15	0,75	0,80		
4 giorni		4,75	3,05	1,70	2 giorni	6,50	2,70	1,75	1,80		
5 giorni	3,30	5,30	3,40	1,55	6 giorni	6,20	8,00	5,15	4,80		
10 giorni		8,40	5,40	2,45	10 giorni	6,00	13,35	8,60	7,95		
20 giorni	3,40	11,90	7,65	3,80	20 giorni	5,80	17,75	11,40	10,00		
30 giorni		12,20	7,80	2,90							
45 giorni	3,20	11,95	7,70	1,70							

acetoinica che è appunto da ritenersi come l'accessorio costante di ogni fermentazione alcolica normale. Contrariamente a quanto siamo stati tratti a concludere nei confronti dello *Pseudosaccharomyces apiculatus*, questo fatto evidentemente dimostra che nel mosto d'uva naturale, acido, il processo di fermentazione alcolica a cui dà luogo l'*Hansenula panis* oltre che essere accompagnato da un intenso processo ossidativo a carico dell'alcol etilico, si svolge con una fisionomia che non è del tutto uguale a quella della fermentazione dei tipici lieviti alcolici. Se il fattore dell'impedimento fermentativo sia generato dal processo ossidativo oppure dal processo stesso della fermentazione alcolica quale essa si svolge nel mosto naturale, è cosa, quindi, che per l'*Hansenula panis* resta da stabilire.

## ESPERIENZE E RISULTATI

Le esperienze vennero condotte su mosto d'uva secondo le stesse modalità indicate nella mia nota precedente relativa alle esperienze su *Pseudosaccharomyces apiculatus*. Lo stipte di *Hansenula panis* mi venne cortesemente fornito dal Prof. T. Castelli, che ringrazio.

## RIASSUNTO

Si dimostra come il fenomeno di autoimpedimento fermentativo, per effetto del quale l'*Hansenula panis* fermenta solo parzialmente il mosto d'uva, possa essere rimosso addizionando di un eccesso di  $\text{CaCO}_3$  il mosto stesso. In queste condizioni lo zucchero del mosto fermenta praticamente per intero e con rendimento fermentativo che nei primi stadi della fermentazione coincide con quello teorico.

## ZUSAMMENFASSUNG

Verf. Beweist das es möglich ist das Phänomen der Selbstverhinderung der Gärung, infolgedessen *Hansenula panis* nur eine partielle Vergärung des Weinmostes verursacht, durch Zusatz eines Ueberschusses an  $\text{CaCO}_3$  zu beseitigen. Unter diesen Verhältnissen vergärt das Zucker des Mostes praktisch vollkommen und es wird so ein Ertrag erhalten welcher, in den ersten Phasen der Gärung, dem theoretischen entspricht.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) T. Castelli - Su alcune Hansenule della fermentazione panaria (Archiv. für Mikrobiol. 4 vol. 4<sup>a</sup> parte; 1933).
- (2) C. Antoniani - Sul fenomeno di autoimpedimento fermentativo e sulle cause atte a rimuoverlo. I. Osservazioni sullo *Pseudosaccharomyces apiculatus* (Ann. Micr., Vol. III, fasc. I, 1943).
- (3) C. Antoniani - La condensazione acetoinica nei lieviti alcolici. Nota 4<sup>a</sup> (Biochim. e Terapia Sperim. Vol. XXX, fasc. I - pag. 1, 1943).