

## Ricerche sul metabolismo glucidico dei lieviti

I. Politi - C. Colla - R. Benetti

Gli studi sulle attività fisiologiche dei lieviti hanno seguito essenzialmente due indirizzi: uno di carattere eminentemente pratico, l'altro di carattere più propriamente chimico; il primo cioè diretto alla precisazione delle condizioni più favorevoli o più vantaggiose allo svolgersi dei processi fermentativi e moltiplicativi, che stanno alla base delle industrie dell'alcool e dei lieviti per panificazione o per uso alimentare; il secondo, invece, diretto a chiarire l'intimo chimismo delle reazioni metaboliche.

Di notevole interesse a questo riguardo sono anche le ricerche e gli studi relativi alla nota reazione di Pasteur (soppressione del metabolismo glucidico anaerobico da parte della respirazione), il cui meccanismo è stato ben lumeggiato dalle classiche esperienze di Meyerhof e, più di recente, anche dai contributi sperimentali di Trautwein e Weigand (1), Kluyver e Hoogerheide (2).

Le attività respiratorie e fermentative dei lieviti presentano tuttavia diversi lati oscuri; e molti fenomeni ci appaiono del tutto inspiegabili, se non tenendo presente che essi si svolgono ad opera di un organismo vivente, il quale è sede di tutto un complesso di reazioni chimiche e chimico-fisiche concatenate e largamente influenzate da numerosi fattori ambientali. Si deve anche ricordare, in proposito, che è caratteristica tipica e comune a tutte le cellule microbiche quella di un adattamento alle condizioni del mezzo, adattamento che, non soltanto si manifesta in modo attuale (intensità e deviazioni delle singole reazioni metaboliche), ma comporta altresì delle modificazioni più o meno notevoli, e non sempre del tutto reversibili (dissociazioni), della stessa costituzione enzimatica del protoplasma.

Ricerche compiute nel nostro Istituto (3) avevano ad esempio posto in luce che la proprietà di utilizzare lo xilosio non è un carattere posseduto dalle cellule di *Torulopsis utilis* cresciute in presenza di glucosio, bensì un carattere acquisito in seguito ad un adattamento che molto facilmente sfugge all'osservazione, in quanto si compie prontamente, con un semplice trapianto, quando il substrato contiene come energetico solo xilosio.

---

(1) K. Trautwein e K. Weigand, *Biochem. Zeitschr.*, t. 240, 1931, pag. 423.

(2) A. J. Kluyver et J. C. Hoogerheide, *Proc. Kon. Acad. v. Wet.* Amsterdam, t. 36, 1933, pag. 605. - J. C. Hoogerheide, *Ann. Ferment.* I, 1935-36, pag. 385.

(3) C. Arnaudi, I. Politi e C. Colla, *Ricerche sulla produzione di lievito dai lieviti bisolfidici dell'industria della cellulosa* da « La Chimica e l'Industria ». Maggio-giugno, 1944, pag. 67.

D'altra parte uno di noi aveva già avuto occasione di constatare che lieviti della specie *ellipsoideus*, i quali - come è noto - sono del tutto inattivi sui pentosi, erano praticamente incapaci o per lo meno stentavano a portare a termine la fermentazione alcoolica del glucosio in liquidi contenenti dello xilosio.

La inspiegabilità di questo fenomeno ci ha indotti ad approfondire le ricerche sul metabolismo idrocarbonato dei lieviti, movendo appunto dalla intravista influenza che uno zucchero non utilizzato come lo xilosio, può esplicare sull'attività fermentativa.

L'indagine venne condotta controllando, mediante la tecnica manometrica di Warburg, l'attività respiratoria e fermentativa di sospensioni di un ceppo di *Saccharomyces ellipsoideus* in presenza di zuccheri diversi, a differenti rapporti di concentrazione. L'indagine medesima ha richiesto anche il controllo del comportamento respiratorio e fermentativo in rapporto alla concentrazione dei singoli zuccheri per valori di questa inferiori all'1%; si sono altresì ripetute le esperienze impiegando sospensioni di lievito ottenute sia da culture su piastre di agar malto, sia da culture aerobiche liquide (brodo malto) e perciò in differente stato fisiologico. Le condizioni e i risultati delle singole esperienze sono riassunti nelle tabelle e nei grafici annessi.

#### INFLUENZA DELLA CONCENTRAZIONE ZUCCHERINA

Come si rileva dai dati delle tabelle I, II, III, e dai diagrammi 1 e 2 si è constatato che la concentrazione può esplicare un'influenza molto variabile, a seconda della natura dello zucchero cimentato e di altre condizioni. Infatti per concentrazioni di glucosio comprese fra 1% e 0,1%, la respirazione risultò pressochè costante con una sospensione di lievito, ottenuta da una cultura di 24 ore su agar malto (tab. I); invece in una esperienza con lievito ottenuto da una cultura in bordo malto (tab. II, diagr. I), si ottennero intensità respiratorie fortemente influenzate dalla concentrazione del glucosio. Codesta influenza appare consistere in due stimoli opposti, tendenti, con il diminuire della concentrazione, l'uno alla diminuzione, l'altro all'aumento degli scambi respiratori. Passando dall'1% al 0,5% appare manifesto il primo di tali stimoli, mentre passando dal 0,5% al 0,25% prevale il secondo.

Questo singolare comportamento può forse essere spiegato ponendo in relazione i processi respiratori con i fenomeni di cui è sede la cellula microbica allorchè le condizioni di ambiente ne indirizzano l'attività verso il passaggio ad uno stato di vita latente, passaggio che avvenendo dopo l'esaurimento del substrato respiratorio, indubbiamente comporta un complesso di reazioni metaboliche per le quali potrebbe benissimo essere necessario un eccezionale concorso energetico. Questa spiegazione, tuttavia, ha per ora carattere di ipotesi, che solo ulteriori ricerche potranno convalidare od escludere. D'altra parte si osserva che la diversità di comportamento nelle due esperienze può essere attribuita a cause diverse; potrebbe cioè essere in relazione al diverso stato fisiologico del lievito, ottenuto rispettivamente da cultura superficiale su agar malto e da cultura liquida, ma potrebbe, anche

e più verosimilmente, dipendere dalle diverse condizioni in cui si sono controllate le attività respiratorie: in un caso infatti la sospensione microbica conteneva mgr. 4,6 di lievito (espresso come sostanza secca) e nell'altro appena mgr. 0,04. Se quest'ultima spiegazione rispondesse a verità, è chiaro che la concentrazione zuccherina esplicherebbe una sensibile influenza solo in condizione di densità microbica del mezzo sufficientemente bassa, vale a dire di disponibilità di O<sub>2</sub>, in seno al substrato, al di sopra di un certo limite (potenziale ossido-riduttivo sufficientemente elevato). La stessa influenza del variabile stato fisiologico del lievito che si è supposta più sopra, in fondo potrebbe manifestarsi appunto in conseguenza delle differenti attività respiratorie di cellule cresciute in condizioni diverse. Pertanto il complesso dei fenomeni osservati potrebbe anche essere interpretato come connesso a particolari influenze di ordine chimico-fisico di cui per ora ci sfugge completamente il meccanismo, ma che non si può escludere possano essere collegate al singolare comportamento dei glucidi studiati da Würmser e Geloso (1).

Nell'unica esperienza istituita per il galattosio, (tab. III, diagr. 2) con una sospensione di lievito, ottenuto da una cultura su agar malto si è pure osservata una spiccata influenza della concentrazione zuccherina. Infatti l'intensità respiratoria decresce con il diminuire della concentrazione; però, considerando l'andamento degli scambi respiratori nel tempo, si osserva che: in presenza di galattosio al 0,75% si ha una leggera diminuzione; al 0,5%, 0,25% e 0,1% si ha invece dapprima una diminuzione più o meno accentuata, e quindi un incremento notevole. Pertanto anche per il galattosio si deduce che l'influenza esplicata dalla concentrazione è piuttosto complessa e verosimilmente congiunta a tutta una serie di reazioni, il cui meccanismo per ora ci sfugge completamente.

#### INFLUENZA DELLO XILOSIO SULL'ATTIVITÀ RESPIRATORIA E FERMENTATIVA DEL LIEVITO IN PRESENZA DI GLUCOSIO

Le ricerche effettuate hanno dimostrato in primo luogo che la presenza di xilosio, almeno sino alla concentrazione dell'1%, non modifica praticamente la respirazione basale del lievito d'esperienza. Viceversa è emerso che lo xilosio può esplicare una spiccatissima influenza sulle attività ossidative e fermentative che il lievito esplica sul glucosio, nel senso di modificarne notevolmente l'intensità.

Anche qui l'indagine ha consentito di constatare che si tratta di una influenza alquanto mutevole, non solo come entità, ma pure come senso: il tutto in relazione al rapporto fra le concentrazioni dei due zuccheri ed allo stato fisiologico del lievito.

L'esperienza di cui la tabella IV e il diagramma 3 riassumono i risultati, dimostra l'influenza dello xilosio all'1%, essendo del 0,5% la concen-

---

(1) Da R. Würmser, *Oxydations et réductions*. Les presses universitaires de France. Paris, 1930.

trazione del glucosio, su lievito ottenuto da cultura liquida; la presenza dello xilosio ha determinato qui un forte aumento della respirazione e contemporaneamente, conforme alla reazione di Pasteur, una notevole depressione dell'attività fermentativa.

In una successiva esperienza (tab. V), effettuata con lievito cresciuto su agar malto, si controllò l'influenza dello xilosio al 0,25%, 0,5% 0,75% e 1%, in presenza di glucosio all'1%; qui l'influenza è risultata meno netta ma di natura complessa; ciò che si può dedurre da questa esperienza soprattutto mettendola in rapporto con le altre, è che la presenza dello xilosio non è indifferente per lo svolgersi delle attività respiratorie e fermentative del lievito, ma agisce come stimolo, ora in un senso ora nell'altro, come risulta più chiaramente, per le diverse condizioni in cui si è operato, dall'esperienza di cui alla tabella VII.

Nell'esperienza della tabella VI, compiuta ancora con lievito ottenuto da agar coltura, venne controllata l'influenza esplicata sulla respirazione dallo xilosio al 0,5% e 1%, per tre concentrazioni diverse di glucosio (1%, 0,5%, 0,25%). Questa influenza, considerando l'andamento degli scambi respiratori anche nel tempo, appare poco accentuata e con indirizzo mutevole.

Infine in un'ultima esperienza (tab. VII, diagr. 4 a, b, c), compiuta con lievito separato da una coltura di brodo malto, venne controllata la respirazione in presenza di glucosio a tre diverse concentrazioni (1%, 0,5 %, 0,25 %) e di xilosio al 0,5% e 1%. Qui l'intensità respiratoria è apparsa fortemente e variamente influenzata dalla concentrazione di entrambi gli zuccheri: innanzitutto si osserva che, in presenza di solo glucosio, l'intensità della respirazione risultò decrescente dall'1% al 0,5% e quindi crescente dal 0,5% al 0,25%. La presenza dello xilosio ebbe effetto più accentuato all'1% che al 0,5%, però, mentre in presenza di glucosio alla concentrazione dell'1% e 0,25% l'effetto fu deprimente, in presenza di glucosio al 0,5% l'effetto fu esaltante. Si deduce quindi che la presenza di xilosio comporta in realtà due stimoli opposti di cui, a seconda delle condizioni del substrato, prevale l'uno o l'altro, in modo analogo a quanto si verifica già per le basse concentrazioni dello stesso glucosio.

E' da osservare in proposito che l'esperienza qui esposta, a differenza delle precedenti, venne effettuata con una massa microbica molto esigua (mgr. 0,04, come sostanza secca, per vaschetta); e perciò anche qui valgono le stesse considerazioni svolte in merito all'influenza della semplice concentrazione del glucosio; in altri termini anche l'influenza dello xilosio apparirebbe collegata a particolari condizioni ossido-riduttive del substrato; e così pure al variabile stato fisiologico del lievito, per le differenti attività respiratorie di cellule cresciute in condizioni diverse.

#### INFLUENZA DELLO XILOSIO SULL'ATTIVITA' RESPIRATORIA DEL LIEVITO IN PRESENZA DI GALATTOSIO

Questa ricerca venne effettuata onde controllare l'influenza eventualmente esplicata da uno zucchero affatto inutilizzato, come lo xilosio, sulla utilizzazione, come semplice substrato respiratorio, di uno zucchero, quale il galattosio, che non viene fermentato dal lievito (salvo eventuale abitudi-

mento). L'esperienza ha rivelato anche qui una spiccata influenza, nonostante si sia impiegato una sospensione di lievito ottenuta da cultura su agar malto; essa è apparsa (tab. VIII, diag. 5 *a, b*) come un aumento del consumo di ossigeno in tutte le prove, ma non si può escludere che essa possa esplicarsi anche in senso opposto, come già si è visto per la coppia glucosio-xilosio.

#### INFLUENZA RECIPROCA DI GLUCOSIO E GALATTOSIO SULLE ATTIVITA' RESPIRATORIE E FERMENTATIVE DEL LIEVITO

In due esperienze (tab. IX e X; diagr. 6 e 7) effettuate con il lievito ottenuto da culture in brodo malto, si poté constatare che il galattosio intensifica i processi respiratori e contemporaneamente deprime quelli fermentativi; ma poichè lo zucchero medesimo, di per sè alimenta più intensamente la respirazione, i risultati sperimentali potrebbero anche significare che sia la presenza del glucosio a deprimere l'attività ossidativa a carico del galattosio. Tuttavia il quesito e così pure altri aspetti del fenomeno potrebbe essere chiarito precisando parallelamente il grado di attacco dei due zuccheri da parte del lievito.

#### RIASSUNTO E CONCLUSIONI

Le ricerche vennero condotte con il metodo manometrico di Warburg, impiegando un ceppo di *Sacch. ellipsoideus*.

Venne indagata l'influenza esplicita da basse concentrazioni di glucosio sull'attività respiratoria.

Con il diminuire della concentrazione al di sotto dell'1% la respirazione subisce modificazioni di intensità più o meno accentuate; esse dipendono dallo stato fisiologico del lievito e dalla massa microbica presente e sono verosimilmente in rapporto con il potenziale redox che si stabilisce nel substrato.

L'influenza è apparsa come determinata da due stimoli opposti e diversamente prevalenti tendenti, con il diminuire della concentrazione, l'uno alla diminuzione, l'altro all'aumento degli scambi respiratori.

Con altre esperienze si è voluto indagare l'influenza esplicita dallo xilosio sulla respirazione in presenza di glucosio a basse concentrazioni.

Anche lo xilosio (che di per sè non è utilizzato) in presenza di glucosio influenza la respirazione, esaltandola o deprimendola analogamente a quanto si verifica con il solo glucosio, cioè in funzione di due stimoli opposti e diversamente prevalenti.

#### SUMMARY

The researches have been conducted with the manometric method of Warburg, using a strain of *Sacch. ellipsoideus*.

These studies had the purpose to determine the influence of low glucose-concentrations on the respiratory activity.

When the concentration is decreasing below 1% the respiration undergoes more or less accentuated modifications of intensity; they are depending upon the physiological state of yeast and of the present microbial mass, and are likely in relation with the redox-potential establishing in the substrate.

The influence has appeared to be decided by two opposite stimulations, which are diversely prevailing and with the diminution of concentration are inclined, one to decrease and the other to increase the respiratory exchanges.

Other researches have had the purpose to examine the influence explained on the respiration by xylene in the presence of glucose at low concentrations.

Also xylene (which alone is not utilized) in presence of glucose influences the respiration, decreasing or increasing it, in analogous way as it happened with glucose soldy, it is to say, in function of two opposite stimulations diversely prevailing.

*(Pervenuto in redazione il 5-5-47).*

INFLUENZA DELLA CONCENTRAZIONE ZUCCHERINA  
SULLA RESPIRAZIONE DEL LIEVITO

TABELLA I

Sospensione microbica da cultura di agar malto, mgr. 0,46 in vaschetta		
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.	
	0'-60'	60'-120'
glucosio 1%	88,3	86,9
glucosio 0,5%	82,5	87,4
glucosio 0,25%	80,5	91,8
glucosio 0,1%	83,7	90,8

Nota. — Massa microbica di 24 ore, centrifugata 2 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 26 ore.

TABELLA II (diagr. I)

Sospensione microbica da cultura di brodo malto, mgr. 0,04 in vaschetta			
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.		
	0'-60'	60'-120'	120'-180'
glucosio 1%	5,9	10,3	14,0
glucosio 0,5%	4,0	7,3	6,6
glucosio 0,25%	13,9	13,8	15,4

Nota. — Massa microbica di 24 ore, centrifugata 4 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 29 ore.

TABELLA III (diagr. 2)

Sospensione microbica da cultura in agar malto, mgr. 0,65 in vaschetta			
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.		
	0'-60'	60'-120'	120'-180'
galattosio 0,75%	176,8	170,3	161,0
galattosio 0,5%	181,8	100,0	157,0
galattosio 0,25%	99,4	76,2	144,0
galattosio 0,1%	59,4	53,5	108,5

Nota. — Massa microbica di 24 ore, centrifugata 2 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 27 ore.

INFLUENZA DELLO XILOSIO  
SULL'ATTIVITA' RESPIRATORIA E FERMENTATIVA  
DEL LIEVITO IN PRESENZA DI GLUCOSIO

TABELLA IV (diagr. 3)

Sospensione microbica da cultura in brodo malto, mgr. 0,85 in vaschetta		
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.	
	Sviluppo di CO <sub>2</sub> in mmc.	
	0'-60'	0'-60'
glucosio 0,5%	42,4	258,0
xilosio 1%	49,0	— 7,9
xilosio 1% + glucosio 0,5%	146,0	151,3

Nota. — Massa microbica di 23 ore, centrifugata 2 volte per 5000 giri, in ghiacciaia per 3 ore.

TABELLA V

Sospensione microbica da cultura in agar malto, mgr. 0,91 in vaschetta				
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.		Sviluppo di CO <sub>2</sub> in mmc.	
	0'-60'	60'-120'	0'-60'	60'-120'
	glucosio 1%	197,3	161,2	470,2
xilosio 1%	47,1	32,0	— 6,0	— 8,3
xilosio 0,25% + gluc. 1%	188,6	159,5	377,5	547,0
xilosio 0,5% + gluc. 1%	206,7	168,0	390,7	624,0
xilosio 0,75% + gluc. 1%	128,0	143,3	420,7	637,0
xilosio 1% + glucosio 1%	213,7	164,1	394,0	625,0

Nota. — Massa microbica di 24 ore centrifugata 2 volte per 5000 giri, in ghiacciaia per 27 ore.

TABELLA VI

Sospensione microbica da cultura in agar malto, mgr. 0,46 in vaschetta		
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.	
	0'-60'	60'-120'
glucosio 1%	88,3	86,9
xilosio 0,5% + glucosio 1%	77,5	92,8
xilosio 1% + glucosio 1%	86,5	93,6
glucosio 0,5%	82,5	87,4
xilosio 0,5% + glucosio 0,5%	83,2	96,8
xilosio 1% + glucosio 0,5%	91,6	96,9
glucosio 0,25%	80,5	91,8
xilosio 0,5% + glucosio 0,25%	78,1	99,8
xilosio 1% + glucosio 0,25%	84,0	101,0

Nota. — Massa microbica di 24 ore, centrifugata 2 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 26 ore.



TABELLA VII (diagr. 4 a, b, c)

Sospensione microbica da cultura in brodo malto, mgr. 0,04 in vaschetta			
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.		
	0'-60'	60'-120'	120'-180'
glucosio 1%	5,9	10,3	14,0
xilosio 0,5% + glucosio 1%	4,6	10,6	10,7
xilosio 1% + glucosio 1%	— 2,1	9,1	11,9
glucosio 0,5%	— 4,0	7,3	6,6
xilosio 0,5% + glucosio 0,5%	6,1	14,0	13,1
xilosio 1% + glucosio 0,5%	11,7	18,3	20,3
glucosio 0,25%	13,9	13,8	15,4
xilosio 0,5% + glucosio 0,25%	0,8	9,5	14,3
xilosio 1% + glucosio 0,25%	3,9	9,3	11,2

Nota. — Massa microbica di 24 ore, centrifugata 4 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 29 ore.

INFLUENZA DELLO XILOSIO  
SULL'ATTIVITA' RESPIRATORIA DEL LIEVITO  
IN PRESENZA DI GALATTOSIO

TABELLA VIII (diagr. 5 a, b)

Sospensione microbica da cultura in agar malto, mgr. 0,65 in vaschetta			
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.		
	0'-60'	60'-120'	120'-180'
galattosio 0,75%	176,8	170,3	161,0
xilosio 0,25% + gal. 0,75%	226,7	178,2	176,0
galattosio 0,5%	181,8	100,0	157,0
xilosio 0,5% + gal. 0,5%	184,1	113,6	164,0
galattosio 0,25%	99,4	76,2	144,8
xilosio 0,75% + gal. 0,25%	133,3	134,1	205,6
galattosio 0,1%	52,4	53,5	108,5
xilosio 0,9% + gal. 0,1%	69,6	58,8	121,8

Nota. — Massa microbica di 24 ore, centrifugata 2 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia 27 ore.

INFLUENZA RECIPROCA DI GLUCOSIO E GALATTOSIO  
SULL'ATTIVITA' RESPIRATORIA E FERMENTATIVA  
DEL LIEVITO

TABELLA IX (diagr. 6)

Sospensione microbica da cultura in brodo malto, mgr. 0,85 in vaschetta		
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.	
	0'-60'	Sviluppo di CO <sub>2</sub> in mmc.
	0'-60'	0'-60'
galattosio 1%	217,5	39,9
galattosio 1% + glucosio 0,5%	200,8	142,4
glucosio 0,5%	42,4	258,0

Nota. — Massa microbica di 23 ore, centrifugata 2 volte, per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 3 ore.

TABELLA X (diagr. 7)

Sospensione microbica da cultura in brodo malto, mgr. 0,04 in vaschetta			
	Consumo di O <sub>2</sub> in mmc.		
	0'-60'	60'-120'	120'-180'
galattosio 1%	13,0	10,8	18,8
glucosio 0,5%	— 4,0	7,3	6,6
galatt. 1% + glucosio 0,5%	4,5	9,7	12,9
glucosio 0,25%	13,9	13,8	15,4
galatt. 1% + glucosio 0,25%	27,9	28,2	30,1

Nota. — Massa microbica di 24 ore centrifugata 4 volte per 15' a 5000 giri, in ghiacciaia per 29 ore.

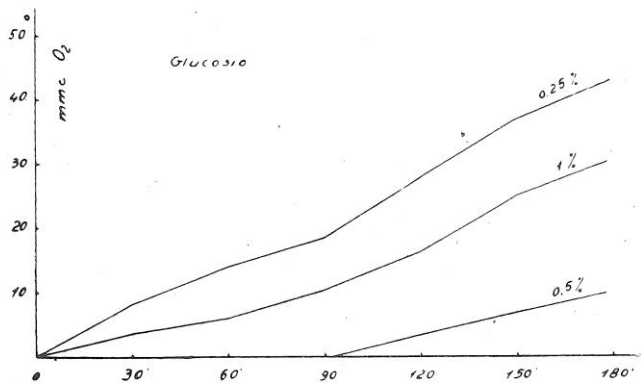


DIAGRAMMA 1 (Tab. II)

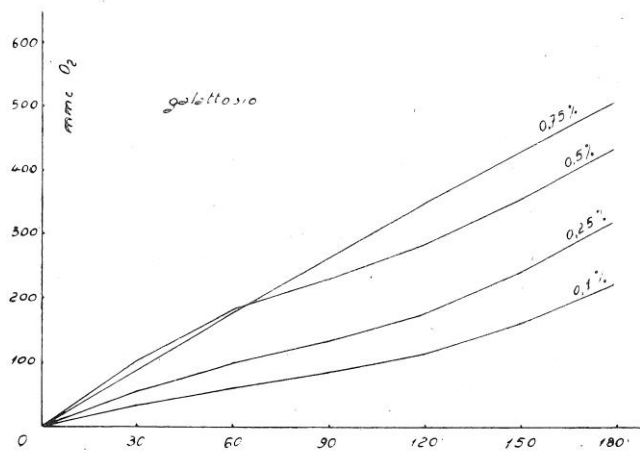


DIAGRAMMA 2 (Tab. III)

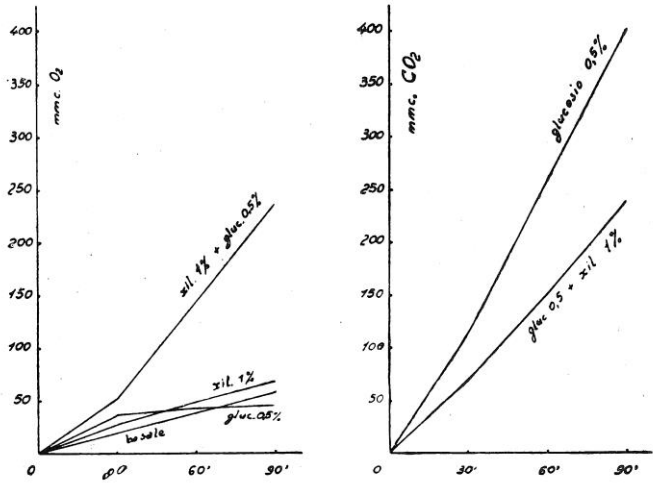


DIAGRAMMA 3 (Tab. IV)

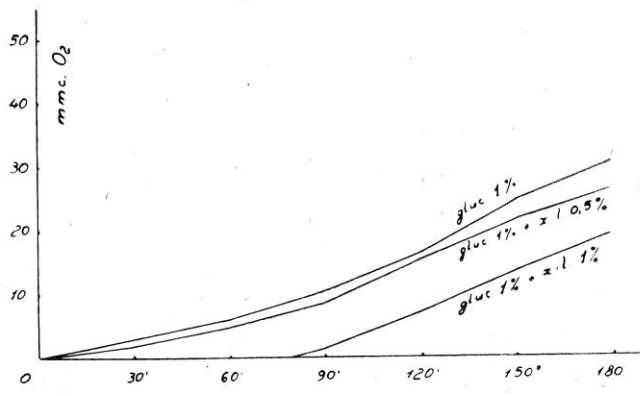


DIAGRAMMA 4 a (Tab. VII)

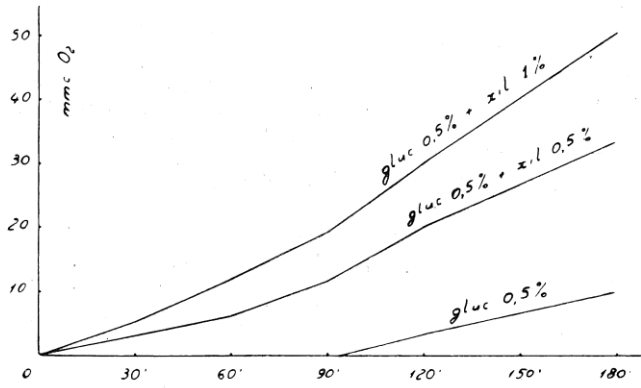


DIAGRAMMA 4 b (Tab. VII)

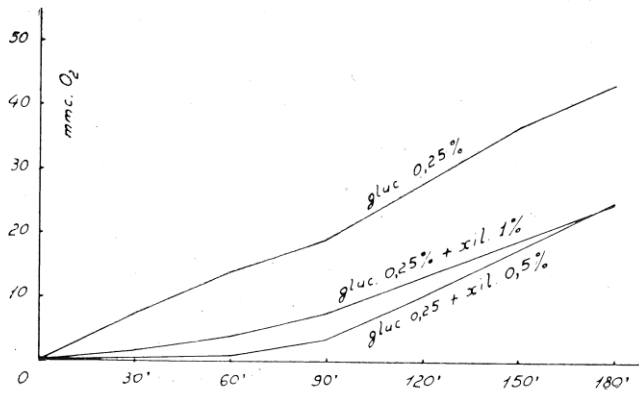


DIAGRAMMA 4 c (Tab. VII)

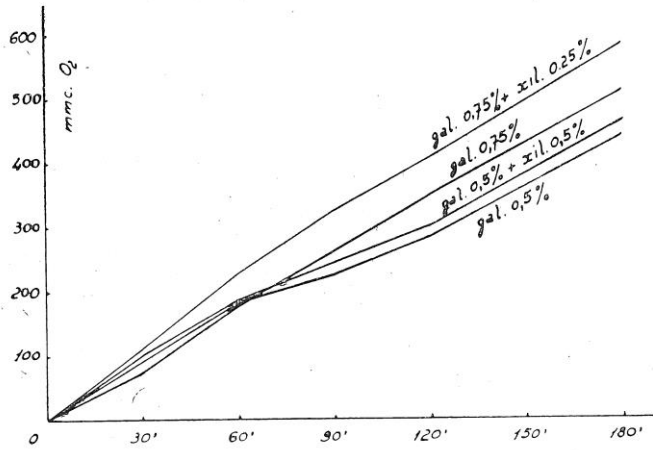


DIAGRAMMA 5 a (Tab. VIII)

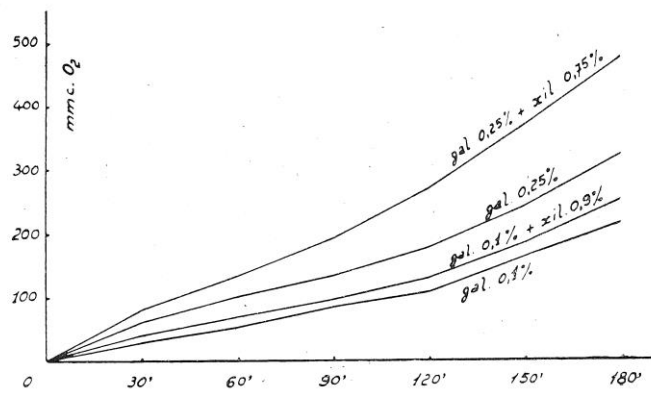


DIAGRAMMA 5 b (Tab. VIII)

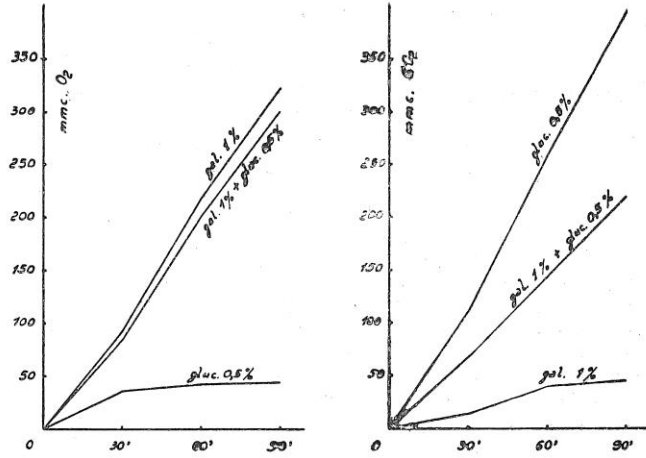


DIAGRAMMA 6 (Tab. IX)

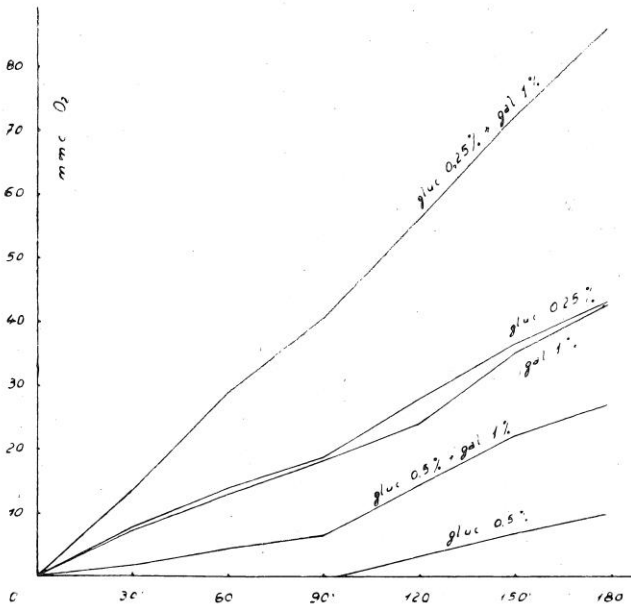


DIAGRAMMA 7 (Tab. X)