



L. CASALE

I PROCESSI ANTIFER- MENTATIVI.

Estratto da
IL PROBLEMA ALIMENTARE
Anno I (Serie II), Fasc. I
Settembre-Ottobre 1937-XV

ROMA - DITTA TIPOGRAFIA CUGGANI
Via della Pace, 35 Telefono 51-311



Asi
55
103

L. CASALE

I PROCESSI ANTIFERMENTATIVI

RIVISTA SINTETICA

Prima di parlare di processi antifermmentativi, si rende necessario fissare alcuni concetti sulle sostanze antisettiche e sul loro meccanismo di azione. È necessario cioè, prima di tutto, distinguere l'azione antisettica da quella antifermmentativa, visto che la vecchia definizione data dal DUCLAUX [1], che considera come antisettiche tutte quelle sostanze che sotto una forma qualsiasi modificano la marcia del fenomeno fermentativo, ci porterebbe ad escludere dagli antisettici il fluoruro ammonico, e tutte quelle altre sostanze che, come questo, ostacolano solo l'attività vegetativa della cellula senza alterare l'attività della zimasi; si passerà poi a considerare il meccanismo di azione delle sostanze antifermmentative e con questo i processi antifermmentativi.

Prendendo lo spunto dalla distinzione che fa il PARIS [2], fra le sostanze che agiscono da veleni sia per le cellule che per la zimasi, ad esempio il cloruro mercurico, e le sostanze che agiscono come veleni per le cellule e non per la zimasi, come il fluoruro ammonico, o viceversa, come il cloroformio, e tenendo anche presente la distinzione che fa il GENEVOIS [3], fra sostanze che hanno solo azione di narcotizzare le cellule, come il cloroformio, le sostanze che hanno un'azione tossica che uccide le cellule, come il sublimato, e quelle che hanno azione specifica sulla zimasi, si potrebbero chiamare tutte le ricordate sostanze col nome generico di veleno, dato che portano sempre un disturbo al normale funzionamento delle cellule e classificarle in due categorie, e cioè:

- 1) Sostanze propriamente antisettiche che agiscono sulle funzioni vegetali della cellula indipendentemente dall'azione diretta o indiretta che possano avere sulla zimasi;
- 2) Sostanze antifermmentative che agiscono sulla zimasi.

Le prime possono avere un'azione reversibile o irreversibile; esse cioè possono soltanto arrestare l'attività cellulare, senza uccidere la cellula, la quale riprende tutte le sue funzioni quando cessa l'azione dell'antisettico, come il cloroformio, il tetracloruro di carbonio; oppure possono avere un'azione irreversibile, quando cioè la loro azione è tale da uccidere le cellule, come il sublimato, i fenoli, l'anidride solforosa, gli eteri dell'acido paraossibenzoico recentemente studiati da SABALITSCHKA [4] e che vanno sotto il nome di nipakol e nipakonbine.

Sull'azione reversibile o irreversibile influisce molto la quantità delle sostanze che agiscono in relazione al numero delle cellule presenti. Devono considerarsi ad azione reversibile quelle sostanze che non uccidono le cellule anche quando arrivano a concentrazione piuttosto forte, mentre sono ad azione irreversibile quelle sostanze che si mostrano tali anche a concentrazione non elevata.

Le seconde e cioè le sostanze antifermmentative che agiscono sulla zimasi, possiamo distinguerle secondo che agiscono sull'intero processo fermentativo, arrestando cioè completamente la fermentazione, oppure agiscono solo su alcuni gruppi di fermenti che costituiscono la zimasi alcolica, modificando l'andamento della fermentazione dei costituenti la zimasi alcolica, — e cioè dei costituenti che depolimerizzano le molecole degli zuccheri, di quelli che inducono fenomeni di ossido-riduzione, di quelli che distaccano l'anidride carbonica dagli acetoacidi dando l'aldeide (carbossilasi), di quelli che agiscono da attivatori in quanto funzionano da accettori per l'idrogeno di fermentazione, di quelli che presiedono a fenomeni di sintesi (carboli-gasi). — risentono generalmente l'azione dell'antifermmentativo, portando deviazione all'andamento fermentativo.

tativo, quelli che inducono fenomeni di ossido-riduzione, quelli che agiscono sulla carbossilasi e quelli che agiscono sull'accettore dell'idrogeno.

Fra gli antifementativi che agiscono arrestando completamente l'attività della zimasi alcoolica senza avere azione sul fermento, sono da ricordare gli acidi grassi monoalogenati e gli acetoni ed aldeidi alogenati.

Interessanti sono i recenti studi eseguiti da LUNDS-GAARD [5] (anni 1930 e 1932) e da GENEVOIS [6] sull'acido monobromoacetico, il quale arresta la fermentazione alcoolica del lievito e la fermentazione lattica dei tessuti senza arrestare l'attività vitale.

I fermenti, in presenza di detta sostanza, possono fare la sintesi degli zuccheri partendo dall'acido lattico, sicchè in essi non è stata distrutta l'attività della carboligasi.

Alla stessa maniera dei lieviti si comportano le cellule degli animali superiori, nei quali la somministrazione di acido bromo-acetico inibisce la formazione dell'acido lattico.

Hanno azione sui singoli fermenti che costituiscono la simasi alcoolica: *a)* le sostanze che, modificando il potenziale di ossido-riduzione del mezzo, deviano i fenomeni di ossidazione e riduzione permettendo la formazione dell'alcool, o dell'acido lattico o inibiscono la formazione di detta sostanza; *b)* gli acidi ai quali sono particolarmente sensibili i fermenti del gruppo della carbossilasi, i quali si giovano dei repulsori della concentrazione idrogenionica, come per esempio i fosfati, gli arseniati; *c)* i solfiti alcalini e gli alcali, che fissando o trasformando l'aldeide acetica, inibiscono l'azione che questa sostanza ha di accettore verso l'idrogeno, sicchè l'idrogeno stesso, fissandosi sull'aldeide glicerica, invece che sull'aldeide acetica, dà origine a glicerina invece che ad alcool.

Come agiscono le sostanze antisettiche e le sostanze antifementative? EULER [7] classifica le dette sostanze in sostanze organiche che sciolgono i lipoidi, in sostanze che agiscono sugli ioni senza precipitarli, in sostanze come i metalli pesanti che precipitano gli albuminoidi e sostanze che inducono un'azione ossidante o riducente del mezzo.

ČZAPEK [8] ha dimostrato che le sostanze venefiche modificano la tensione superficiale del mezzo in modo da determinare un'esosmosi del contenuto cellulare.

TRAUBE conferma il concetto di ČZAPEK, ammettendo che l'azione venefica è legata ad un'azione di tensione superficiale, che modificando la concentrazione della soluzione circostante le membrane cellulari, modificano anche l'andamento e l'intensità delle reazioni che avvengono fra le dette membrane e la soluzione.

GENEVOIS [9], riprendendo il concetto di TRAUBE, ritiene che le sostanze antisettiche che agiscono come

narcotizzanti e cioè come paralizzatori momentanei della vita siano quelle che depositandosi sulla membrana cellulare, isolano questa dal mezzo in cui vive, rendendo impossibile gli scambi chimici fra le cellule e l'ambiente: senza però manifestare azione chimica sulle membrane.

A questo concetto del GENEVOIS, aggiungerci che mentre gli antisettici ad azione reversibile agiscono secondo l'accennato meccanismo, gli antisettici ad azione irreversibile, come gli antifementativi, agiscono modificando le membrane cellulari e gli scambi che possono avvenire fra queste e l'ambiente, deviano così dal normale le funzioni enzimatiche della cellula stessa. Così agiscono gli elettroliti, come gli acidi, gli alcali, quelle sostanze capaci di precipitare le sostanze proteiche, come i metalli pesanti, e quelli che modificano il potenziale di ossido riduzione, come l'anidride solforosa, l'acido solfidrico ecc.

Però, comunque agiscano le sostanze venefiche per il fermento, è un fatto accertato che la loro intensità di azione dipende molto dalla natura del liquido in cui vivono, dalla temperatura e dalla natura dei fermenti stessi.

La dose di antisettico o antifementativo necessaria per arrestare la vita e la fermentazione, varia pertanto secondo le accennate condizioni. Allontanandosi da dette dosi ed andando verso dosi minori l'azione venefica diminuisce fino ad estinguersi e poi, per dosi ancora minori, subentra un'azione stimolante.

Accade pertanto per i fermenti ciò che accade anche per gli organismi superiori, i quali vengono eccitati da piccole dosi di quelle sostanze che in dosi più elevate riescono venefiche, come l'arsenico, la stricnina ecc.

La dose di un antifementativo o antisettico, necessaria per arrestare la fermentazione o la vita del fermento, è in relazione sia con la quantità di lievito sulle quali agiscono — fatto questo accertato da WILL e confermato da LINDNER [10], — sia con lo stato del fermento, — fatto questo osservato da MAYER, DUCLAUX e LÜNDBERG.

Volendo impedire la fermentazione di un liquido con l'impiego di minime quantità di antisettico o antifementativo, è necessario agire prima che si inizi nel liquido il fenomeno fermentativo.

Agendo in queste condizioni sono sufficienti quantità basse di antifementativo, sia perchè basso risulta il numero di cellule presenti — le quali, secondo MÜLLER-THURGAU, devono raggiungere il numero di 100 milioni per litro perchè la fermentazione possa iniziarsi — e sia anche perchè le cellule che si trovano nel liquido, prima che si inizi la fermentazione, sono allo stato di gemmazione, e cioè in uno stato in cui risentono al massimo grado l'azione dell'antisettico.

I fermenti non restano passivi all'azione dei veleni, ma reagiscono cercando di neutralizzare l'azione del veleno stesso.

Se la quantità di veleno è bassa, il fermento subisce uno stimolo e la sua attività vitale riesce esaltata; viceversa per dosi maggiori l'attività vitale va attenuandosi fino a scomparire con la morte della cellula.

L'energia con cui i microbi reagiscono ad un veleno varia con la natura dei microbi stessi, sicchè aggiungendo un dato veleno ad un liquido in cui vivono microrganismi diversi, si può giungere a selezionare dal liquido i fermenti più resistenti al veleno aggiunto.

Così sono stati selezionati i fermenti abituati all'acido fluoridrico, così i fermenti abituati all'anidride solforosa.

Ho detto fermenti abituati all'acido fluoridrico e fermenti abituati all'anidride solforosa, ma la qualifica « abituato » che vorrebbe dire « adattato » non risponde a quanto in verità si verifica.

Infatti, i fermenti selezionati da un liquido a cui fu aggiunto acido fluoridrico o anidride solforosa sono quelli che inizialmente possedevano la proprietà di resistere alle dette sostanze ed essi pertanto non hanno subito fenomeni di adattamento.

Pare anzi che anche la resistenza che vanno acquistando i fermenti all'uso di quantità sempre più elevate di un veleno sia solamente apparente, poichè l'assuefazione dei fermenti ad un veleno richiede un tempo molto più elevato di quello che praticamente si impiega per isolarli ed abituarli. Questo parere è sostenuto dal PARIS, dal MENSIO, dal DE ROSSI, dai MARTINAND.

E così, anche la deviazione del normale processo fermentativo, attribuita alla presenza di un veleno è dovuta molte volte ad una selezione dei saccaromiceti presenti nel mezzo studiato.

In proposito esiste uno studio recente del GENEVOIS [11].

In questo studio, l'A. — riprendendo esperienze già eseguite da altri, nelle quali è dimostrato che l'aggiunta di un anti-fermentativo al mosto d'uva porta ad una fermentazione elettiva nei riguardi del fruttosio, contrariamente a quanto si verifica nelle condizioni normali in cui lo zucchero che prima scompare è il glucosio — dimostra come il fenomeno osservato non è dovuto ad una inversione nella proprietà elettiva dei fermenti ma ad una selezione di quei fermenti capaci di attaccare il levulosio più che il glucosio.

Esisterebbero cioè nei mosti, vicino ai fermenti normali che preferiscono il glucosio al levulosio, anche i fermenti ad attitudine contraria, i quali però, per essere i più resistenti al veleno aggiunto sono anche quelli che rimangono padroni dell'ambiente.

Fra le sostanze che hanno azione selettiva verso questi ultimi fermenti, vi è anche l'anidride solforosa

la quale, per questa ragione, oltre che per altre qui taciute, ritengo non conduca sempre a quei miglioramenti tecnici della flora saccaromicetica che molti enologi le attribuiscono.

Perchè nelle condizioni normali di fermentazione dei mosti predominano i fermenti che preferiscono il glucosio al levulosio, mentre il contrario accade in presenza di alcune sostanze, come ad esempio dell'acido monobromoacetico?

Nelle condizioni normali di fermentazione avviene una selezione naturale, avviene cioè che i diversi fermenti, costretti a vita comune si lottano, ed ognuno cerca rimanere padrone dell'ambiente, producendo sostanze che sono velenifiche agli altri.

In questa lotta, ogni germe è eccitato a produrre sostanze velenifiche ad altri e l'eccitamento è dovuto alla presenza delle sostanze velenifiche da ciascuno prodotte.

Nella lotta riesce vittoriosa quella specie che, in relazione all'ambiente in cui vive, può opporre tutte le sue difese per neutralizzare l'effetto velenifico delle sostanze prodotte dalle altre specie.

Questa lotta si manifesta con mezzi diversi; ma specialmente con la produzione di sostanze velenose per gli altri germi concorrenti.

Ed è così che un terreno invaso da muffe, o dai batteri del girato o da quello butirrico o acetico o dal *saccaromices apiculato* o dal *cerevisiae*, non consente lo sviluppo del fermento ellittico; ed è così che nel mosto normale, in cui le condizioni di ambiente sono più favorevoli allo sviluppo del fermento ellittico, può questo rimanere padrone dell'ambiente.

Fra le sostanze velenifiche che produce il fermento ellittico per proteggersi dall'azione dei microrganismi concorrenti, vi è l'alcool.

L'alcool, secondo la teoria di WORTMANN sulla fermentazione alcoolica, sarebbe un mezzo di difesa del fermento alcoolico contro i microrganismi concorrenti.

MENSIO [12], per dare un esempio della funzione che ha l'alcool nella lotta fra i diversi germi del mosto, segue con osservazioni microscopiche l'andamento della fermentazione e rileva che mentre all'inizio i diversi germi si sviluppano indipendentemente l'uno dall'altro, con la prima formazione di alcool e man mano che la fermentazione procede incomincia a manifestarsi il predominio di questo o di quel fermento, secondo la resistenza che essi hanno all'alcool.

E così, alla prima formazione di alcool scompaiono le muffe ed i batteri e si stabilisce il predominio degli apiculati, poi, quando la produzione dell'alcool supera i 4 gradi, restano padroni del campo i germi più resistenti all'alcool.

E le sostanze velenifiche che i diversi germi producono non sono tali solo per le specie diverse ma anche per i germi stessi che le producono.

È per questa ragione che la rifermentazione dei vini, nei quali sono già contenuti i prodotti dell'attività biologica del fermento alcoolico avviene con difficoltà.

Resta però, come concetto fondamentale, che la presenza di più germi nello stesso terreno determina una concorrenza vitale che stimola ciascuno di essi a difendersi dall'azione contraria degli altri.

In questa lotta riuscirà vincitrice quella specie che trova nell'ambiente in cui la lotta si svolge le migliori condizioni per difendersi dall'azione contraria delle altre.

Così — ritornando a considerare i fermenti che preferiscono il glucosio al levulosio o viceversa — nelle condizioni normali dei mosti d'uva i fermenti che prenderanno normalmente il predominio, attaccano prima il glucosio e poi il levulosio.

Ma già con la concentrazione dei mosti le cose cambiano a vantaggio dei fermenti che preferiscono il levulosio al glucosio e questo fatto si accentua con la presenza degli antifermentativi.

Quale azione esercitano le sostanze antifermentative verso i lieviti sui quali manifestano azione selettiva?

Agiscono esse come i veleni che si producono per quelle azioni biologiche determinate dalla concorrenza vitale oppure con un meccanismo diverso?

Nel primo caso la presenza dell'antifermentativo dovrebbe esaltare, nei germi che ad esso resistono, l'attività produttiva delle sostanze venefiche per altri germi, sicchè questi ultimi verrebbero distrutti non soltanto dall'azione contraria dell'antifermentativo, ma anche dall'azione venefica delle sostanze prodotte dai germi resistenti all'antifermentativo stesso.

Ciò pare che si verifichi in molti casi

Sembrano cioè accertati casi in cui mentre l'azione isolata dell'antifermentativo non riesce ad arrestare l'attività di un dato lievito che trovasi da solo in un mosto, vi riesce invece quando il lievito stesso trovasi nel mosto associato ad altri resistenti all'antifermentativo stesso.

In più, pare che il fermento resistente all'antifermentativo e selezionato con l'impiego di questo da un mosto d'uva normale, abbia esaltato a tal punto l'attività di produrre sostanze venefiche verso i lieviti non resistenti all'antifermentativo da impedire lo sviluppo di questi anche quando vengono insieme seminati in mosti normali privi di antifermentativi.

Questo fatto, che deve però essere ancora meglio accertato, ci orienta verso nuovi processi antifermentativi.

Esso cioè ci darebbe la possibilità di procurarci, a mezzo dei lieviti resistenti agli antifermentativi, quelle sostanze che, prodotte da questi, riescono ad inibire la fermentazione normale dei mosti, e pertanto ci porterebbe all'impiego di nuovi antisettici specifici per i lieviti normali, che potrebbero essere chiamati biologici, poichè derivano dalla stessa attività dei lieviti.

RIASSUNTO. — Dall'esame dei processi svolgentesi durante la fermentazione e particolarmente di quella selettiva che avviene dopo l'aggiunta di alcuni antisettici l'A. prospetta la possibilità della creazione di nuovi antisettici specifici per i lieviti normali che potrebbero essere chiamati biologici poichè derivano dalla stessa attività dei lieviti.

LETTERATURA

- [1] DUCLAUX, *Trattato di microbiologia*, Paris, 1900.
- [2] PARIS, *Principi teorici di tecnica agraria*, Perugia, 1931.
- [3] GENEVOIS, *Annales des fermentations*, pag. 86, 1935.
- [4] SABALITSCHKA, « Archiv. der Pharmazie und Berichte der Deutschen pharmazeutischen-Gesellschaft », 1930.
- [5] LUNDSGAARD, « Biochem. Zeitschrift », t. 220 e 250, 1930 e 1932.
- [6] GENEVOIS, opera citata.
- [7] EULER, « Chemie Hefte », Leipzig, 1915.
- [8] CAZAPEK, opera citata del PARIS.
- [9] GENEVOIS, opera citata.
- [10] LINDNER, « Voch. Br. », 1913.
- [11] GENEVOIS, *Antiseptiques et fermentation defective*, « Annales des fermentations », 1935.
- [12] MENZIO, *Enologia*, Unione Tipografica Editrice, Torino, 1928.

~~321085~~

55238



