

Influenza della cicloeximide, della DL-ètionina, della L-adrenalina e del cortisolo sulla biosintesi della glicerina e dell'acetoina da parte di *Kloeckera apiculata*

di

V. BOLCATO, P. SPETTOLI e A. DAL BELIN PERUFFO

Einfluß von Cycloheximid, DL-Aethionin, L-Adrenalin und Cortisol auf die von *Kloeckera apiculata* verursachte Biosynthese des Glycerin und des Acetoin

Zusammenfassung. — In der von *Kloeckera apiculata* verursachten alkoholischen Gärung des Traubenmostes hemmte Cycloheximid (Actidion) die Glycerin- und Acetoinbildung teilweise. Die Hemmung der Glycerinbildung wurde zum Teil von L-Adrenalin aufgehoben, während DL-Aethionin und Cortisol der Hemmung der Acetoinbildung entgegenwirkten. Cycloheximid verursachte auch eine Zunahme der Alkoholbildung während der Gärung.

Die Glycerin- und Acetoinbildung wurde von DL-Aethionin aktiviert. L-Adrenalin übte keine Wirkung auf die Glycerinbildung aus, hemmte jedoch die Acetoinbildung. In Anwesenheit von Cortisol erfolgte das Gegenteil.

Die Ergebnisse wurden hinsichtlich der Möglichkeit erörtert, die Anteile der sekundären Gärungsprodukte mit Hilfe endogener oder exogener Stoffe zu verändern.

Introduzione

Da oltre un decennio le ricerche sui fattori che regolano il livello degli enzimi e la sintesi delle proteine nelle cellule microbiche animali e vegetali hanno assunto un sorprendente largo sviluppo. Non solo il livello degli enzimi cade sotto la repressione da prodotti finali, l'induzione, la repressione catabolica ecc. (BOLCATO 1973), ma anche sotto l'azione di trattamenti fisiologici, nutrizionali, di antibiotici, di ormoni ecc.

Se lo studio dei processi di repressione, induzione ecc. ha interessato soprattutto la regolazione degli enzimi nelle cellule microbiche, le ricerche invece con agenti farmacologici si sono rivolte specialmente allo studio del livello degli enzimi e delle sintesi proteiche negli animali intatti o sulle cellule animali in cultura. Si è visto così che numerosi enzimi dei più vari tessuti e interessati ai maggiori processi metabolici possono essere influenzati da questi trattamenti.

Questa carenza di ricerche sull'azione degli agenti farmacologici sul biochimismo delle cellule microbiche, ci ha indotti a studiare l'influenza di due inibitori delle sintesi proteiche e quindi degli enzimi, quali la cicloeximide (actidione) e la DL-ètionina e di due induttori, quali la L-adrenalina e il cortisolo, sugli enzimi che governano due reazioni secondarie della fermentazione alcolica di *Kloeckera apiculata* e cioè la biosintesi della glicerina e quella dell'acetoina. Abbiamo inoltre seguito il rendimento in alcole della fermentazione per accertare se i 4 farmaci allo studio avessero anche qualche influenza sul processo globale.

L'azione inibitrice degli antibiotici, come la cicloeximide, sulle sintesi proteiche è connessa a un blocco della funzione ribosomale come conseguenza di un loro legame con uno specifico sito del ribosoma (PESTKA 1971, NEBERT e GILBOIN 1968, ASHWELL e WORK 1970). L'azione inibitrice della DL-ètionina è stata osservata da LEE *et al.* (1959) e confermata successivamente da HUTCHINS e SELLINGER (1963), da SCHI-

MASSEK *et al.* (1963) da RUEGAMER *et al.* (1964). Al contrario, la L-adrenalina agisce sulle cellule dei tessuti animali determinando in più casi un aumento dell'attività o dell'ammontare di specifici enzimi (MOLINOFF e AXELROD 1971) con un'azione frequentemente mediata dall'adenosina 3'—5' monofosfato. Al pari dell'adrenalina, anche il cortisolo è un induttore, sempre a mezzo di meccanismi genetici, di vari enzimi sia nelle cellule in vivo che in culture (KNOX *et al.* 1956, GREENGARD *et al.* 1963, NEBERT e GILBOIN 1968).

Materiali e Metodi

Il lievito

Il lievito usato è *Kloeckera apiculata* ceppo 5990 gentilmente inviatoci dal Prof. T. CASTELLI, Direttore dell'Istituto di microbiologia agraria e tecnica dell'Università di Perugia. Abbiamo scelto questo lievito perchè ha il vantaggio, su *Saccharomyces ellipsoideus*, di formare maggiori quantità di acetoina come avevano già dimostrato ANTONIANI e GUGNONI (1941) e come è risultato a noi stessi da esperienze preliminari di confronto fra *Kl. apiculata* e il ceppo 20 di *Sacch. ellipsoideus*, sempre della collezione del Prof. CASTELLI.

Preparazione delle esperienze

Il mosto d'uva (Zuegg) veniva diluito a un contenuto in zuccheri di ca il 7% a pH di 3.5. 750 ml del mosto si dividevano in due parti: una di 600 ml in bevuta di 1000 ml e l'altra di 150 ml in bevuta di 250 ml. Le due frazioni di mosto si pastorizzavano a 90 °C per 5 min. Dopo raffreddamento, nella frazione di 150 ml si trasferivano asetticamente alcune abbondanti ansate della patina di una cultura del lievito su mosto solidificato con agar. Dopo ca 12—15 h, quando la fermentazione era in pieno sviluppo, il mosto si trasferiva nella bevuta contenente i 600 ml. A questo punto, alla cultura si aggiungevano le sostanze allo studio alle concentrazioni segnate nelle Tabelle. Parallelamente, e nello stesso modo, si preparava la fermentazione controllo senza cioè alcuna aggiunta di sostanze estranee. Temperatura di fermentazione 25 °C. Sul mosto, prima e dopo la fermentazione, si procedeva alle seguenti determinazioni.

pH: con potenziometro Radiometer 28.

Zuccheri: defecazione del mosto o del vino secondo AMERINE (1965) e determinazione, sul filtrato limpido, degli idrati di carbonio secondo BERTRAND (RIBÉREAU-GAYON e PEYNAUD 1958).

Alcole etilico: per ossidazione cromica (AMERINE 1965).

Acetoina: con il metodo di EGGLETON *et al.*, modificato da WESTERFELD riportato da NEISH (1952).

Glicerina: con il metodo di CASTINO e USSEGLIO-TOMASSET (1968).

Risultati Sperimentali e Discussione

Azione della cicloeximide

La cicloeximide inibisce le biosintesi proteiche nei lieviti (KERRIDGE 1958) e verso queste cellule ha una tossicità variabile con la specie: *Sacch. fragilis* può crescere in presenza di 1 mg/ml dell'antibiotico, mentre lo sviluppo di *Sacch. pastorianus* è bloccato già a una concentrazione di 0.17 µg/ml (WHIFFEN 1948). Nel caso del nostro lievito, per ottenere un evidente effetto sulle reazioni metaboliche prese in considerazione, siamo dovuti ricorrere a concentrazioni dell'antibiotico da 100 a 300 mg % ml di mosto sia per la scarsa sensibilità del lievito sia anche per probabili

combinazioni dell'antibiotico con qualche costituente del mosto. Comunque, a queste concentrazioni, l'attività fermentativa del lievito non risentiva della presenza della cicloeximide. La quale invece limitava, in accordo con la sua proprietà, la moltiplicazione delle cellule: da 100 ml di vino finale si raccoglievano mg 51.4 di cellule secche contro mg 71.7 del controllo (—28.3%).

Alla concentrazione di 300 mg % ml di mosto, l'antibiotico riduceva la formazione della glicerina del 39.1% e quella della acetoina del 31.6%; alla concentrazione di 200 mg % ml, rispettivamente del 23.1% e del 28.5%. Questa limitazione nella formazione della glicerina da parte di *Kl. apiculata* è, probabilmente da riferirsi a una parziale inibizione della biosintesi dell' α -glicerofosfatodeidrogenasi con conseguente diminuita riduzione del fosfodiossiacetone ad acido α -glicerofosforico, il precursore della glicerina. Nelle cellule animali, seppure in condizioni sperimentali del tutto differenti, la puromicina e l'actinomicina D possono inibire l'induzione dell' α -glicerofosfatodeidrogenasi dei mitocondri (SELLINGER *et al.* 1966).

La cicloeximide, alle concentrazioni di 200 mg e 300 mg %, riduceva anche la formazione dell'acetoina rispettivamente del 28.5 e del 31.6%. Se si tiene presente il meccanismo alla base della biosintesi dell'acetoina nei lieviti (KRAMPITZ 1969), si deve supporre che la cicloeximide abbia ad agire sulla reazione catalitica del pirofosfato di tiamina, quando lega la sua molecola di aldeide acetica attiva ad un'altra molecola di aldeide. In effetti, non si ritiene che l'antibiotico possa esercitare un blocco parziale della biosintesi dell'apocarbossilasi, in quanto la formazione dell'alcole decorreva regolarmente sia in assenza che in presenza dell'antibiotico. Il quale anzi causava un maggior rendimento in alcole: il rendimento medio di 4 esperienze con 300 mg % di cicloeximide era di 62.8 ml di alcole % g di zuccheri contro 59.2 ml dei controlli. L'aumentato rendimento in alcole non è del tutto giustificabile dalla minore formazione di glicerina e di acetoina. Dai dati sperimentali dell'esperienza in presenza di 300 mg % di cicloeximide (v. Tabella 1), si aveva una minore produzione, nei confronti del controllo, di 122 mg % di glicerina e di 58.2 mg % di acetoina, equivalenti approssimativamente a 180 mg % di zuccheri traducibili in ca 0.108 ml di alcole, non sufficienti a giustificare il maggior rendimento. Riteniamo pertanto che

T a b e l l a 1

Azione della cicloeximide (Schuchardt) sulla produzione quantitativa della glicerina e dell'acetoina (tra parentesi l'inibizione %)
Wirkung von Cycloheximid (Schuchardt) auf die Bildung von Glycerin und Acetoin (in Klammern: Hemmung in Prozent)

Analisi	Iniziale	Dopo ca 4 giorni di fermentazione		
		Senza cicloeximide	Cicloeximide 200 mg % ml	Cicloeximide 300 mg % ml
pH	3.50	3.40	3.45	3.30
Glicerina mg %	0.00	312.00	240.00 (—23.1)	190.00 (—39.1)
Acetoina mg ‰	0.00	184.20	131.60 (—28.5)	126.00 (—31.6)
Zuccheri g %	7.40	0.72	0.32	0.38
Alcole ml %	0.00	3.96	4.39	4.41
Rendimento % in alcole sugli zuccheri consumati	—	59.20	62.00	62.80

Dati medi di 4 esperienze.

non siano da escludere altre incidenze della cicloeximide sul metabolismo generale del lievito.

L'azione inibente dell'antibiotico sulla formazione della glicerina era contrastata dall'adrenalina, mentre l'etionina e il cortisolo contrastavano l'azione inibente sulla formazione della acetoina (v. Tabelle 2, 3 e 4).

Azione della DL-etionina

L'etionina era piuttosto tossica verso *Kl. apiculata*. Già a 50 mg % la fermentazione subiva un sensibile rallentamento: infatti dopo ca 5 giorni gli zuccheri consumati non superavano il 70% della concentrazione iniziale. Al microscopio le cellule si presentavano sofferenti, con un citoplasma granuloso. Il peso in cellule secche era sensibilmente inferiore a quello in assenza dell'antimetabolita e cioè di mg 55.4% ml di vino nel primo caso e mg 84.5% nel secondo (—34.4%).

Nelle nostre condizioni sperimentali l'etionina (v. Tabella 2), contrariamente alla cicloeximide, causava un aumento medio del 18% nella formazione della glicerina. Sarebbe quindi da sottointendere che l'etionina inducesse la biosintesi della NAD-L-glicerofosfato deidrogenasi o per lo meno un'attivazione dell'enzima. Non si può tuttavia escludere che l'azione dell'etionina interessasse anche la biosintesi o l'attivazione della fosfatasi della defosforilazione del L-3-glicerofosfato con conseguente spostamento dell'equilibrio dal fosfodiossiacetone al L-glicerofosfato.

In presenza di etionina, anche la formazione dell'acetoina subiva un incremento medio del 27.2% in seguito a una probabile azione attivante sulla reazione secondaria del pirofosfato di tiamina che conduce all'acetoina.

L'etionina non contrastava l'azione inibente della cicloeximide sulla sintesi della glicerina, neutralizzava invece in parte l'inibizione sulla formazione dell'acetoina (confronta i dati delle Tabelle 1 e 2).

Tabella 2

Azione della DL-etionina (Fluka) da sola o associata alla cicloeximide sulla produzione quantitativa della glicerina e dell'acetoina (tra parentesi l'aumento (+) o la diminuzione (—) %)

Wirkung von DL-Aethionin (Fluka) allein oder zusammen mit Cycloheximid auf die Bildung von Glyzerin und Acetoin (in Klammern: Erhöhung (+) oder Verminderung (—) in Prozent)

Analisi	Iniziale	Dopo 5 giorni di fermentazione		
		senza DL-etionina	DL-etionina 50 mg % ml	DL-etionina 50 mg % ml cicloeximide 200 mg % ml
pH	3.50	3.30	3.45	3.45
Glicerina mg %	0.00	266.00	314.00 (+18.0)	208.00 (—21.8)
Acetoina mg ‰	0.00	110.00	144.00 (+27.2)	95.00 (—13.6)
Zuccheri g %	6.72	0.16	2.96	2.97
Alcole ml %	0.00	3.94	2.28	2.29
Rendimento %				
in alcole sugli zuccheri consumati	—	60.10	60.60	61.10

Dati medi di 3 esperienze.

Azione dell'adrenalina

La L-adrenalina (epinefrina) non è praticamente solubile in acqua, lo è invece nelle soluzioni diluite di acidi. Pertanto, nel mosto si scioglieva del tutto alla concentrazione da noi sperimentata: 200 mg %. Non possiamo però escludere una sua combinazione con l'acido tartarico nella cui forma non perde tuttavia la sua attività. E' anche facilmente ossidabile, ma è da ritenere che nell'ambiente anaerobico e acido della fermentazione abbia a conservarsi a lungo (RODD 1956, DAWSON *et al.* 1969, p. 532).

L'ormone non aveva alcuna azione tossica verso il lievito, la cui fermentazione decorreva regolare con un rendimento in alcole senza significative differenze rispetto al controllo. Il raccolto del lievito (secco) era leggermente superiore in presenza di adrenalina: mg 73% ml di vino contro mg 69.1% del controllo.

Quantitativamente la glicerina non subiva variazioni sensibili in presenza di adrenalina (Tabella 3). L'ormone non aveva quindi alcuna influenza sulla biosintesi o sull'attività degli enzimi che governano la formazione della glicerina. L'ormone invece contrastava in parte l'azione repressiva della cicloeximide su questi enzimi: in presenza di 200 mg % dell'antibiotico, la glicerina diminuiva del 23.1% (Tabella 1) e solo del 17.3% quando all'antibiotico si associava l'adrenalina (Tabella 3).

L'adrenalina deprimeva fortemente la biosintesi dell'acetoina (—48.3%) con un'azione probabilmente simile a quella della cicloeximide. Se si associavano l'ormone e l'antibiotico, le loro azioni deprimenti in parte si sommarono cosicchè la formazione dell'acetoina si riduceva del 53.7% rispetto al controllo (cfr Tabelle 1 e 3).

La cicloeximide, anche se associata all'adrenalina, aumentava sensibilmente il rendimento in alcole, a parte le difficoltà proprie della sua esatta determinazione. Questo potrebbe anche giustificare talune altre discrepanze tra il rendimento e la biosintesi quantitativa della glicerina e dell'acetoina senza escludere, come abbiamo detto per la cicloeximide, altre incidenze della DL-etionina, della L-adrenalina e del cortisolo sul metabolismo generale del lievito.

Tabella 3

Azione dell'L-adrenalina (Schuchardt) da sola o associata alla cicloeximide sulla produzione della glicerina e dell'acetoina (tra parentesi l'aumento (+) o la diminuzione (—) %) Wirkung von L-Adrenalin (Schuchardt) allein oder zusammen mit Cycloheximid auf die Bildung von Glycerin und Acetoin (in Klammern: Erhöhung (+) oder Verminderung (—) in Prozent)

Analisi	Iniziale	Dopo ca 4 giorni di fermentazione		
		senza L-adrenalina	L-adrenalina 200 mg % ml	L-adrenalina 200 mg % cicloeximide 200 mg % ml
pH	3.50	3.40	3.35	3.35
Glicerina mg %	0.00	230.00	233.00 (+ 1.3)	190.00 (—17.3)
Acetoina mg ‰	0.00	171.10	88.40 (—48.3)	79.10 (—53.7)
Zuccheri g %	7.42	1.19	1.25	1.22
Alcole ml %	0.00	3.73	3.71	3.79
Rendimento % in alcole sugli zuccheri consumati	—	59.70	60.10	61.10

Dati medi di 3 esperienze.

Azione del cortisolo

La solubilità del cortisolo in acqua è piuttosto limitata: ca 28 mg % (Dawson *et al.* 1969, p. 280). Non conoscendo se, per la particolare composizione del mosto, la solubilità avesse a cambiare, abbiamo operato in presenza di 100 mg % ml, cioè lo sviluppo e la fermentazione del lievito avvenivano in una soluzione satura dell'ormone. Se scarsa era la sua influenza sulla velocità di fermentazione, agiva invece marcatamente sulla proliferazione del lievito: da 100 ml del vino controllo si raccoglievano mg 87.6 di cellule secche, mentre in presenza del cortisolo il raccolto era di mg 236.6 con un incremento quindi del 170%. Il risultato è in accordo con la proprietà dell'ormone di indurre le sintesi proteiche. Tuttavia il cortisolo, al pari della cicloeximide, riduceva la formazione della glicerina del 36.4% nei confronti del controllo (Tabella 4).

Può essere che l'azione inibente dell'ormone si esercitasse non tanto sulla biosintesi degli enzimi che governano la formazione della glicerina, quanto sulla loro attività, senza escludere anche un'induzione nella formazione degli enzimi che presiedono alla biosintesi dei lipidi (DE WELLS *et al.* 1971) con ciò limitando l'accumulo della glicerina. La biosintesi dei lipidi e dei fosfolipidi si avvia infatti dall'acido α -glicerofosforico o, secondo taluni Autori, è possibile anche dal fosfodiossiacetone (LENNARZ 1970). Associato alla cicloeximide, il cortisolo riduceva la formazione della glicerina del 43.2%, come se le azioni negative dell'ormone e dell'antibiotico sul processo si sommassero parzialmente.

Il cortisolo agiva invece molto limitatamente sulla sintesi dell'acetoina, ma aveva la possibilità di contrastare quasi del tutto l'azione deprimente della cicloeximide sulla sintesi stessa. In effetti, in presenza della sola cicloeximide, l'acetoina si riduceva quantitativamente del 31.6% (Tabella 1) e solo del 4.9% se alla cicloeximide si associava il cortisolo (Tabella 4).

Conclusioni

Nella fermentazione alcolica del mosto di uva da parte di *Kl. apiculata*, la cicloeximide inibiva parzialmente la biosintesi della glicerina e quella dell'acetoina. L'inibizione sulla formazione della glicerina era contrastata dalla L-adrenalina,

Tabella 4

Azione del cortisolo (Schuchardt) da solo o associato alla cicloeximide sulla produzione della glicerina e dell'acetoina (tra parentesi l'aumento (+) o la diminuzione (—) %) Wirkung von Cortisol (Schuchardt) allein oder zusammen mit Cycloheximid auf die Bildung von Glyzerin und Acetoin (in Klammern Erhöhung (+) oder Verminderung (—) in Prozent)

Analisi	Iniziale	Dopo 4 giorni di fermentazione		
		Senza cortisolo	Cortisolo a saturazione	Cortisolo a saturazione cicloeximide 300 mg % ml
pH	3.50	3.40	3.30	3.30
Glicerina mg %	0.00	291.00	185.00 (—36.4%)	165.00 (—43.2%)
Acetoina mg % ₁₀₀	0.00	142.80	150.20 (+ 4.9%)	135.40 (— 4.9%)
Zuccheri g %	7.11	0.57	0.72	1.19
Alcole ml %	0.00	3.98	3.90	3.62
Rendimento % in acole sugli zuccheri consumati	—	60.09	61.07	61.14

Dati medi di 3 esperienze.

mentre la DL-etionina e il cortisolo contrastavano quella sull'acetoina. L'etionina attivava la biosintesi della glicerina e dell'acetoina; l'adrenalina, senza nessuna influenza sulla biosintesi della glicerina, inibiva quella dell'acetoina, mentre per il cortisolo avveniva il contrario. La cicloeximide tendeva ad aumentare il rendimento in alcole della fermentazione.

Questi risultati ci mostrano che, con l'aiuto di sostanze ad azione antibiotica, ormonale o antimetabolica, è possibile influire su talune reazioni del metabolismo di *Kl. apiculata* e quindi sull'andamento della sua fermentazione e sul rendimento in alcole. Se tutto ciò sia da riferirsi ad un'induzione o repressione della sintesi dei relativi enzimi o ad una loro attivazione o inibizione è materia da discutere.

Ma i risultati acquistano anche un significato pratico quando si voglia studiare più a fondo le cause dei variabili rapporti fra i prodotti secondari della fermentazione. A parte la natura del lievito e le condizioni sperimentali che influenzano quantitativamente la formazione della glicerina e dell'acetoina, raccolte nel trattato di AMERINE e JOSLYN (1970), non possiamo escludere che talune microsostanze presenti nell'uva, come ormoni vegetali, antimetaboliti ecc. (CATALANO 1962) abbiano ad influire sulla formazione quantitativa di questi due prodotti e in genere sui prodotti secondari della fermentazione alcolica. Già RANKINE e BRIDSON (1971) e OUGH *et al.* (1972) hanno notato che la varietà dell'uva influiva sull'ammontare della glicerina prodotta e che nei mosti delle uve più mature si formavano maggiori quantità di glicerina. WUCHERPFENNIG e SEMMLER (1972) ritengono che la produzione quantitativa dell'acetaldeide nei vini dipenda dalla presenza di talune non identificate sostanze dei mosti.

Lo studio di queste sostanze capaci di agire sui rapporti fra i prodotti secondari della fermentazione alcolica a mezzo di influenze sulla biosintesi e sull'attività degli enzimi potrebbe essere di notevole interesse per l'orientamento dei caratteri dei vini. Allo scopo non è da escludere anche l'uso di sostanze esogene ai mosti purchè naturalmente igienicamente permissibili.

Riassunto

Nella fermentazione alcolica del mosto d'uva con *Kl. apiculata*, la cicloeximide (actidione) inibiva parzialmente la formazione della glicerina e dell'acetoina. L'inibizione della formazione della glicerina era parzialmente contrastata dalla L-adrenalina, mentre la DL-etionina e il cortisolo contrastavano quella dell'acetoina. La cicloeximide causava anche un aumento del rendimento in alcole.

L'etionina attivava tanto la formazione della glicerina quanto quella dell'acetoina.

L'adrenalina non influiva sulla formazione della glicerina, ma inibiva fortemente quella dell'acetoina. In presenza di cortisolo avveniva il contrario.

I risultati sono discussi in relazione alla possibilità di variare i rapporti fra i prodotti secondari della fermentazione con l'aiuto di sostanze endogene o esogene ai mosti.

Bibliografia

- AMERINE, M. A., 1965: Laboratory procedures for enologists, 26. Associated students store, Univ. Calif., Davis.
— and JOSLYN, M. A., 1970: Table wines. The technology of their production. Univ. Calif. Press, Berkeley.
ANTONIANI, C. e GUGNONI, S., 1941: L'acetilmetilcarbinolo nei vini. Ann. Chim. Appl. 31, 417—422.
ASHWELL, M. and WORK, T. S., 1970: The biogenesis of mitochondria. Ann. Rev. Biochem. 39, 251—290.

- BOLCATO, V., 1973: Sistemi di regolazione degli enzimi nelle cellule. *Sci. Tecnol. Alimenti* 3, 141.
- CASTINO, M. e USSEGLIO-TOMASSET, L., 1968: La determinazione del 2,3-butanediolo e della glicerina nei vini. *Riv. Viticolt. Enol.* 21, 465—480.
- CATALANO, M., 1962: Sulla presenza di inibitori naturali nei fermentati alcolici. *Boll. Ricerche Centro Enol. Paulsen (Marsala)* 1, 71—78.
- DAWSON, R. M., ELLIOT, D. C., ELLIOT, W. H. and JONES, K. M., 1969: Data for biochemical research. 2 Ed. 280, Clarendon Press, Oxford.
- DE WELLIS, J., INGLISH, D. and GALEY, F., 1971: Effect of cortisol and epinephrine on glial cells in culture. *Chem. Abstr.* 75, 65w.
- GREENGARD, O., SMITH, M. A. and ACS, G., 1963: Relation of cortisone and synthesis of ribonucleic acid to induced and developmental enzyme formation. *J. Biol. Chem.* 238, 1548—1551.
- HUTCHINS, E. C. and SELLINGER, O. Z., 1963: Changes of mitochondrial and lysosomal enzyme activities elicited by triiodothyrosine: inhibition by ethionine. *Federation Proc.* 22, 312.
- KERRIDGE, D., 1958: The effect of actidione and other antifungal agents on nucleic acid and protein synthesis in *Saccharomyces carlsbergensis*. *J. Gen. Microbiol.* 19, 497—506.
- KNOX, W. E., AUERBACH, V. H. and LIN, E. C. C., 1956: Enzymic and metabolic adaptation in animals. *Physiol. Rev.* 36, 164—254.
- KRAMPTZ, O. L., 1969: Catalytic functions of thiamin diphosphate. *Ann. Rev. Biochem.* 38, 213—240.
- LEE, Y. P., TAKEMORI, A. E. and LARDY, H. A., 1959: Enhanced oxidation of α -glycerophosphate by mitochondria of thyroid-fed rats. *J. Biol. Chem.* 234, 3051—3054.
- LENNARZ, W. J., 1970: Lipid metabolism. *Ann. Rev. Biochem.* 39, 359—388.
- MOLINOFF, P. B. and AXELROD, J., 1971: Biochemistry of catecholamines. *Ann. Rev. Biochem.* 40, 465—500.
- NEBERT, D. W. and GILBOIN, H. V., 1968: Substrate-inducible microsomal aryl hydroxylase in mammalian cell culture. II. Cellular responses during enzyme induction. *J. Biol. Chem.* 243, 6250—6261.
- NEISH, A. C., 1952: Analytical methods for bacterial fermentations, 39 Report N. 46-8-3. Res. Council Canada, Saskatoon.
- OUGH, C. S., FONG, D. and AMERINE, M. A., 1972: Glycerol in wine: determination and some factor affecting. *Amer. J. Enol. Viticult.* 23, 1.
- PESTKA, S., 1971: Inhibition of ribosome functions. *Ann. Rev. Microbiol.* 25, 487—562.
- RANKINE, B. C. and BRIDSON, A., 1971: Glycerol in Australian wines and factors influencing its formation. *Amer. J. Enol. Viticult.* 22, 6—12.
- RIBÉREAU-GAYON, J. et PEYNAUD, E., 1958: *Analyse et contrôle des vins*, 217, Librairie Polytechnique Béranger, Paris.
- ROD, E. H., 1956: Chemistry of carbon compounds. III. Aromatic compounds, 883, Elsevier Publishing Co., New York.
- RUEGAMER, W. R., WESTERFELD, W. W. and RICHERT, D. A., 1964: α -glycerophosphate dehydrogenase response to thyroxine in thyroid ectomised, thiuracilfed and temp-adapted rats. *Endocrinology* 75, 908—916.
- SCHIMASSEK, H., KADENBACH, B., RUSSMAN, W. and BÜCHER, T., 1963: in WEBER, G., *Advances in Enzyme regulation* 1, 103, The McMillan Co. New York.
- SELLINGER, O. Z., LEE, K. S. and FESLER, K. W., 1966: The induction of mitochondrial α -glycerophosphate dehydrogenase by thyroid hormone. Effect of adrenalectomy, thyroidectomy and cortisone administration. *Biochim. Biophys. Acta* 124, 289—294.
- WHIFFEN, A. J., 1948: The production, assay and antibiotic activity of actidione, an antibiotic from *Streptomyces griseus*. *J. Bacteriol.* 283—291.
- WUCHERPFENNIG, K. und SEMMLER, G., 1972: Die Acetaldehydbildung im Verlauf der Gärung in Abhängigkeit vom Gehalt an Polyphenolen und vom pH-Wert. *Mitt. Klosterneuburg* 22, 38—52.

Eingegangen am 12. 10. 1973

Prof. V. BOLCATO
Univ. degli Studi di Padova
Ist. di Chimica e Ind. Agrarie
35 100 Padova
Via Gradenico 6
Italia