ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

VINCENZO LORENZELLI, CESARE BONINO

Sullo spettro ultrarosso del lievito

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 37 (1964), n.6, p. 457–460.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1964_8_37_6_457_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Chimica microbiologica. — *Sullo spettro ultrarosso del lievito* (*).

Nota di VINCENZO LORENZELLI e CESARE BONINO, presentata (**) dal Corrisp. P. PASQUINI.

In una Nota precedente [1], abbiamo analizzato, alla luce dei risultati disponibili nella letteratura, le condizioni di applicazione della tecnica spettroscopica ultrarossa allo studio dei microorganismi.

Nell'intento di verificare sperimentalmente i risultati della nostra analisi, abbiamo intrapreso un insieme di studi spettroscopici su materiali biologici di varia origine, avvalendoci delle moderne apparecchiature del Centro Studi di Chimica Applicata del Consiglio Nazionale delle Ricerche di Genova. Si riferiscono in questa Nota i primi risultati relativi al lievito (1).

Il lievito secco liofilizzato è stato ridotto in polvere finissima ed accuratamente privato di ogni traccia di umidità per ottenere campioni spettroscopicamente utilizzabili. Per la preparazione di questi abbiamo impiegato il metodo delle pastiglie, utilizzando come prodotto disperdente una polvere di bromuro di potassio per la regione dell'ultrarosso vicino e medio, ed una polvere di politene finissimo per il lontano ultrarosso, dove il bromuro di potassio cessa di trasmettere (circa 400 cm^{-1}).

Lo spettro del campione è stato misurato tra $2\ \mu$ e $150\ \mu$. Le frequenze misurate negli spettri ottenuti sono raccolte nella Tabella I, con un'indicazione approssimata delle intensità.

La relativa semplicità dello spettro, tenuto conto della complessità del materiale in istudio, è probabilmente soltanto apparente. Le bande misurate, che escono dal fondo continuo al quale partecipano le numerosissime bande sicuramente presenti, sono solo quelle dovute alle vibrazioni attive delle sostanze che predominano quantitativamente. Con questa premessa, come si poteva prevedere, lo spettro nell'ultrarosso vicino non mostra caratteristiche particolari.

La banda intensa e larga, centrata a 3355 cm^{-1} , cade nella regione caratteristica delle vibrazioni di valenza di gruppi NH impegnati in legami a idrogeno. La sua frequenza è però un poco troppo elevata rispetto ai valori normalmente attribuiti a questa vibrazione ($3280\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$) [2], per cui è possibile che all'insieme della banda contribuiscano vibrazioni di valenza di gruppi ossidrilici, anch'essi legati in ponti d'idrogeno, di frequenza un poco superiore (circa $3350\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$). Nonostante le nostre buone condizioni sperimentali

(*) Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologia dell'Università - Bologna e Centro Studi di Chimica Applicata del C.N.R. - Genova.

(**) Nella seduta del 12 dicembre 1964.

(1) *Saccharomyces cerevisiae*.

di risoluzione, la separazione delle due possibili componenti, entrambe larghissime a causa dell'anarmonicità delle vibrazioni corrispondenti, è risultata impossibile.

TABELLA I.

Frequenze (in cm^{-1}) e probabili attribuzioni dei massimi di assorbimento nello spettro ultrarosso del lievito.

FREQUENZE	ATTRIBUZIONE
3355 FF	OH e NH associati
2960 F	
2915 F	C—H alifatici
2850 F	
2330 <i>dd</i>	
1745 <i>d</i>	C=O ?
1662 FF	Amide I
1642 FF	
1542 <i>m</i>	Amide II
1452 <i>d</i>	
1402 <i>m</i>	
1238 <i>d</i>	
1151 <i>m</i>	
1105 F	
1075 F	
1042 F	
995 F	
805 <i>dd</i>	
572 <i>m</i>	
150 <i>d</i>	legami a idrogeno ?

Le intensità relative delle bande sono indicate come segue: FF = fortissima; F = forte; *m* = media; *d* = debole; *dd* = debolissima.

La banda netta verso 2900 cm^{-1} , chiaramente formata da tre componenti ($2960 - 2915$ e 2850 cm^{-1}) è senz'altro da attribuire alle oscillazioni di C—H alifatici in gruppi metilenici e metilici.

La banda molto intensa verso 1650 cm^{-1} , chiaramente sdoppiata in tutti i nostri spettri, è senza dubbio la cosiddetta banda Amide I, caratteristica del gruppo amidico nelle proteine. Lo sdoppiamento può essere dovuto all'esistenza di diversi tipi di ponti d'idrogeno, tenuto conto che lo studio nella regione di 3350 cm^{-1} mostra la probabile esistenza di gruppi OH ed NH, entrambi donatori di protoni. Occorre però ricordare che sdoppiamenti di questo tipo sono già stati osservati su proteine pure, ed è stato suggerito [3] che essi corrispondono alle due configurazioni possibili α (a catena elicoidale) e β (a catena allungata).

La banda a 1542 cm^{-1} corrisponde anch'essa ad una vibrazione localizzata nel gruppo amidico, detta Amide II. Come mostrano anche i risultati dei raggi X, la situazione reale del gruppo amidico nelle catene proteiche è intermedia tra le due strutture limiti rappresentabili schematicamente nella maniera seguente:

Questa risonanza ha per effetto di diminuire la frequenza della vibrazione di valenza del gruppo C=O (Amide I) e di aumentare quella della vibrazione di valenza del gruppo C—N, dato che questo acquista un certo carattere di doppio legame.

Le due bande in questione appaiono nella maggior parte dei polipeptidi e proteine a frequenze piuttosto costanti. W. E. Hanby et al. [4] hanno misurato bande tra 1610 e 1650 cm^{-1} circa, e tra 1500 e 1550 cm^{-1} per la gramicidina, la tirocidina, la polilisina, il citocromo *c*, etc.

Compaiono inoltre nei nostri spettri, tra 1450 cm^{-1} e 1000 cm^{-1} alcune altre bande: si tratta però prevalentemente di vibrazioni di valenza di legami C—O, C—N e C—C, o di deformazioni dei gruppi metilici o metilenici, estremamente poco caratteristiche.

Si conferma dunque appieno quanto si era concluso in base alla bibliografia disponibile: lo spettro ultrarosso vicino e medio di materiali biologici complessi, anche se si può prestare talvolta ad interessanti considerazioni, è scarsamente o affatto caratteristico. Nel caso specifico in questione lo spettro proteico risulta nettamente prevalente, conclusione del resto facilmente prevedibile. Se si vuole lavorare in questa regione dello spettro ultrarosso bisogna sicuramente rinunciare allo studio del materiale biologico come tale, ed operare sui componenti singoli o sui gruppi di componenti isolati in maniera opportuna, come già avevamo preveduto nella conclusione della nostra Nota precedente [1].

Anche lo studio del lontano ultrarosso, nel quale si sperava di trovare bande specifiche del materiale biologico come tale, non risulta molto soddisfacente. Nel nostro caso, a parte la debolissima inflessione verso 805 cm^{-1} , si

sono potute misurare due sole bande, larghe e di media intensità, a 572 cm^{-1} ed a circa 150 cm^{-1} , nella regione compresa tra $15\ \mu$ e $150\ \mu$. Mentre la prima (572 cm^{-1}) è certamente dovuta ad un'oscillazione molecolare interna, è molto probabile che la seconda (150 cm^{-1}) sia da riferire a vibrazioni intermolecolari del legame a idrogeno, per le quali i nostri studi recenti su sostanze semplici [5] hanno messo in evidenza assorbimenti caratteristici in questa regione. Verrebbe così messa ancora una volta in evidenza l'importanza fondamentale di questo tipo di interazione anche nei sistemi biologici.

Le conclusioni alle quali siamo giunti con le esperienze descritte in questa Nota ci permettono di orientare opportunamente l'ulteriore lavoro di ricerca che stiamo svolgendo in questo campo.

Ringraziamo sentitamente la prof. Elisa Ghigi, Direttore dell'Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, ed il prof. Mario Sacchetti, Direttore dell'Istituto di Microbiologia Agraria dell'Università di Bologna, per l'interesse dimostrato.

BIBLIOGRAFIA.

- [1] V. LORENZELLI e C. BONINO, «Ann. Microbiologia», *12*, 101 (1962).
- [2] A. ELLIOTT, «Advances in Spectroscopy», *1*, 214 (1959).
- [3] A. ELLIOTT, W. E. HANBY e B. R. MALCOLM, «Disc. Farad. Soc.», *25*, 167 (1958).
- [4] W. E. HANBY, S. G. WALEY, J. WASTON e E. J. AMBROSE, «J. Amer. Chem. Soc.», *72*, 3239 (1950).
- [5] V. LORENZELLI, Comunicazione VII Congresso Europeo di Spettroscopia Molecolare, Budapest, 1963.