

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIII.

1906

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XV.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1906

più ricca in tellurio, cioè del componente che ha la più alta temperatura di fusione, mentre che la superiore è più ricca in selenio, cioè di quel componente la cui aggiunta abbassa la temperatura di solidificazione.

Perciò le mescolanze fuse di selenio e tellurio si solidificano dando luogo ad una serie continua di cristalli misti della stessa specie.

La curva di solidificazione dimostra che il selenio ed il tellurio sono isomorfi, ed i cristalli di miscela come quelli dei componenti appartengono al tipo esagonale-romboedrico. È perciò assai probabile che i minerali di Faczebaja e dell'Honduras costituiscano dei miscugli isomorfi.

Fisiologia. — *L'azione dei gaz compressi sulla vita dei microorganismi e sui fermenti* (1). Nota del dott. CARLO FOÀ, presentata dal Socio A. Mosso.

Secondo le esperienze di P. Bert, v. Schrötter, A. Mosso, l'ossigeno e l'acido carbonico compressi esercitano sul protoplasma vivente un'azione perturbatrice che si esplica tanto sull'organismo intero, quanto su parti di esso isolate. Paul Bert aveva notato che sottoponendo un cane all'azione dell'ossigeno compresso a parecchie atmosfere, esso moriva in preda a forti convulsioni, per un'azione del gaz compresso sui centri nervosi, mentre tutti i fenomeni ossidativi che sarebbe stato lecito prevedere aumentati, diminuivano invece. Diminuivano infatti il consumo di ossigeno, la produzione di acido carbonico e di urea, la distruzione del glucosio del sangue e la temperatura dell'animale.

L'ossigeno compresso, secondo le esperienze di P. Bert agisce funestamente sulle uova e sugli embrioni di rana, sulle crisalidi di mosca, sulla germinazione dei semi e sui germi della putrefazione. L'ossigeno non sarebbe capace di penetrare a fondo nei tessuti o nei liquidi, perciò la sua azione è tanto più intensa quanto minore è lo spessore e quanto maggiore è la superficie del tessuto su cui agisce. Perciò sottoponendo all'azione dell'ossigeno compresso un campione di sangue messo in tubo stretto e profondo, la putrefazione è bensì impedita, ma avviene poi non appena cessi l'azione del gaz. Essa invece non ha luogo neppure quando cessi l'azione del gas, se il sangue era posto in un matraccio a fondo largo e in uno strato sottile.

Tessuti animali freschi sottoposti all'azione dell'ossigeno compresso consumano maggiori quantità di ossigeno fino a che questo non sia compresso al di là di 3 atmosfere, ma la putrefazione per queste pressioni ha luogo ancora.

Se la pressione è maggiore la putrefazione è impedita e vengono aboliti il consumo di ossigeno e la produzione di acido carbonico da parte del tes-

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia di Torino, diretto dal prof. A. Mosso.

suto (muscoli). L'ossigeno compresso impedisce la coagulazione del latte se agisce sopra una vasta superficie, e se vien compresso a 15 atmosfere abolisce l'azione fermentativa del lievito di birra, e del *micoderma aceti*. Non ha invece alcuna azione nociva sulla diastasi, sulla pepsina, sull'invertina, sull'emulsina, sul veleno dello scorpione, sul vaccino e sulle tossine della morva e del carbonchio.

Da questa importante serie di ricerche del Bert si puo trarre la conclusione che l'ossigeno compresso al disopra di 4 atmosfere ha un'azione nociva non solo sugli organismi superiori, ma anche sulla vita dei bacteri, e sull'attività di alcuni fermenti, mentre la maggior parte di questi resiste all'azione dell'ossigeno compresso.

Le esperienze mie sono in massima una ripetizione di quelle di Paul Bert, ma ebbero per iscopo di indagare se anche altri gaz compressi agiscono come l'ossigeno, se non vi potessero essere artifizi tali da permettere ai microorganismi di vivere pur sotto l'azione dell'ossigeno compresso, e infine se agendo su di essi con pressioni non eccessive si potesse riuscire a paralizzare la vita del bacterio senza abolirla, così da poter meglio studiare la ragione per la quale i fermenti o le tossine da essi secreti perdono la loro attività.

Cercai di risolvere quest'ultimo problema facendo agire i vari gaz compressi sia direttamente sui microorganismi viventi, sia sul loro succo spremuto col torchio di Buchner, o sulla soluzione delle loro tossine, e queste esperienze condussero, come si vedrà, alla conclusione che anche il fermento glicolitico del lievito resiste all'azione dell'ossigeno compresso come gli altri fermenti, purchè esso sia già liberato dalla cellula del *saccaromyces* quando l'ossigeno agisce, mentre la fermentazione è abolita se l'azione dell'ossigeno compresso si esplica sulle cellule di lievito, che paralizzate nel loro ricambio non sono più capaci di elaborare il fermento.

Studiaai adunque l'azione dell'ossigeno, dell'idrogeno e dell'acido carbonico compressi a 2, 3, 4 e 5 atmosfere, e come microorganismi ne scelsi alcuni (aerobii) sporigeni e privi di spore: il *bacillus subtilis*, il *saccaromyces invertens* (Bertarelli), la *sarcina aurantiaca*, il *bacillus tphi*, il *saccaromyces cerevisiae*, e

Ricercai: 1° se si sviluppassero culture in agar o in brodo, sottoposte subito dopo la semina all'azione dei vari gaz compressi;

2° se culture già sviluppate e sottoposte ai vari gaz perdessero o no la facoltà di venir trapiantate con successo;

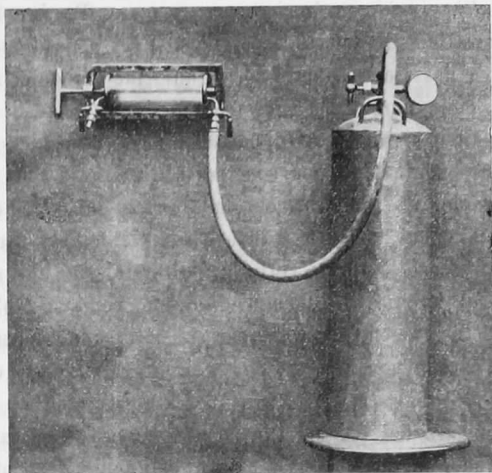
3° se culture che non si fossero sviluppate per l'azione dei gaz potessero svilupparsi poi riportate nell'aria comune;

4° se il fermento del lievito, e la tossina del tifo perdessero o no la loro attività, facendo agire i gaz sui microorganismi, oppure sui fermenti stessi già prima isolati.

Le provette o i tubi di fermentazioni venivano posti in un cilindro di

vetro a pareti spesse chiuso da un robusto telaio metallico, capace di resistere a parecchie atmosfere di pressione (fig. 1); e il gaz passava nel cilindro da un bidone che lo conteneva compresso a parecchie atmosfere.

Il cilindro di vetro, dopo che vi era stato compresso il gaz, veniva messo in una stufa D'Arsonval regolata alla temperatura costante di 38°. Per la



fermentazione glicolitica operai ad una temperatura di 28°. Riassumerò ora brevemente i

RESULTATI DELLE ESPERIENZE.

Ricerche sull'ossigeno compresso. — L'ossigeno compresso a 2 atmosfere permette lo sviluppo di tutti i microorganismi sopra ricordati, e non ha azione nociva sulle culture già sviluppate. A 3 atmosfere di pressione le culture sono meno rigogliose. A 4 atmosfere le culture non si sviluppano affatto, però si sviluppano non appena cessi l'azione dell'ossigeno e vengano riportate nell'aria a pressione atmosferica. Culture già sviluppate sottoposte ad una pressione di 4 atmosfere d'ossigeno, possono venir trapiantate con successo alla pressione atmosferica. La fermentazione del glucosio per opera del *saccharomyces cerevisiae* è impedita se la pressione agisce sopra una sospensione del microorganismo nella soluzione di glucosio; procede invece attivissima se si opera col succo cellulare spremuto con il torchio di Buchner a 300 atmosfere di pressione. La tossina del tifo sottoposta a 4 atmosfere di pressione di ossigeno uccide la cavia per iniezione entoperitoneale come la tossina di una comune coltura in brodo filtrata su candela.

Ricerche con l'idrogeno compresso. — I risultati di queste esperienze si possono riassumere in poche parole: l'idrogeno anche se compresso a 5

atmosfera non disturba affatto lo sviluppo dei microorganismi, come non diminuisce per nulla l'attività del fermento glicolitico e della tossina del tifo.

È da notare che l'idrogeno veniva compresso nel cilindro senza prima estrarre l'aria che in questo era contenuta, cosicchè i microorganismi si trovavano sempre in un'atmosfera in cui la tensione parziale dell'ossigeno non veniva diminuita.

Ricerche sull'anidride carbonica compressa. — Per brevità non ripeterò partitamente i risultati di queste esperienze. Essi non furono differenti da quelli ottenuti per l'ossigeno compresso, e l'anidride carbonica sviluppò la sua azione nociva a cominciare dalla pressione di 4 atmosfere.

Culture che non si erano sviluppate nell'acido carbonico compresso a 4 atmosfere, si sviluppano non appena sono portate nell'aria alla pressione ordinaria. La tossina del tifo non è per nulla alterata dall'acido carbonico compresso. La fermentazione alcoolica è invece completamente arrestata, sia che il gaz compresso agisca sopra le cellule di lievito, sia che essa agisca sul succo spremuto col torchio di Buchner. Vedremo come si debba interpretare questa differenza nell'azione dell'ossigeno e dell'acido carbonico. L'azione nociva dell'acido carbonico compresso non si prolunga quando è cessata l'azione diretta del gaz.

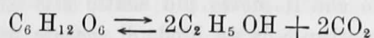
Infatti le culture dei batteri e la fermentazione alcoolica prendono sviluppo rigoglioso non appena cessi l'azione dell'acido carbonico compresso. L'azione di questo gaz, alla pressione di 4 atmosfere, è dunque soltanto paralizzante, e questo è provato pure dal fatto che culture già sviluppate sottoposte all'azione del CO_2 compresso possono venir trapiantate con successo.

Dall'insieme di questo primo gruppo di esperienze si possono trarre le seguenti conclusioni:

L'idrogeno compresso a 4 atmosfere in presenza di ossigeno alla tensione parziale normale non esercita alcuna azione nociva sulla vita dei microorganismi, nè sulle attività dei fermenti e delle tossine. L'ossigeno e l'acido carbonico hanno invece a quella pressione un'azione paralizzante sullo sviluppo dei microorganismi. Perchè la loro azione si eserciti è necessario che la superficie su cui agiscono sia grande relativamente alla massa, perciò per tali esperienze sono più adatte le culture su agar solidificato che non quelle su brodo, a meno che il brodo sia steso in piccolo spessore sopra una vasta superficie. Anche il Bert aveva notato che l'azione nociva dell'ossigeno compresso sulla putrefazione e sulla coagulazione del latte, si esplicava tanto più intensamente quanto più vasta era la superficie su cui il gaz agiva. Nelle mie esperienze non spingevo mai la pressione al di là di 4-5 atmosfere, e questo faceva sì che la vita dei batteri non venisse soppressa, ma soltanto paralizzata, mentre il Bert aveva trovato che ad una pressione di 15 atmosfere i microorganismi vengono uccisi. Vedemmo come l'ossigeno compresso arresti la fermentazione alcoolica soltanto se agisce sulle cellule di lievito integre,

mentre non ha azione sull'attività fermentativa del succo cellulare spremuto col torchio di Buchner, e già dicemmo che questo avviene perchè essendo paralizzato il metabolismo della cellula, essa non elabora più il fermento, sul quale invece l'ossigeno compresso non agisce direttamente.

L'acido carbonico compresso a 4 atmosfere, a differenza dell'ossigeno, arresta la fermentazione alcoolica sia che esso agisca sulle cellule di lievito, sia che esso agisca sul succo cellulare spremuto. In questo caso noi dobbiamo considerare che l'acido carbonico è uno dei prodotti della fermentazione stessa, ed è noto che i prodotti di una reazione enzimatica esercitano un'azione rallentatrice sulla reazione stessa. Così nell'equazione di equilibrio che rappresenta la fermentazione alcoolica dello zucchero:



se aumentiamo di molto la concentrazione (pressione parziale) dell'anidride carbonica, impediremo per la legge delle masse che lo zucchero si scinda. Lo stesso avverrebbe se si aumentasse di tanto la concentrazione dell'alcool, di quanto si aumenta quella dell'acido carbonico comprimendolo a 4 atmosfere.

Eccettuato dunque questo caso speciale dell'acido carbonico in rapporto con la fermentazione alcoolica, possiamo dire che l'ossigeno e l'anidride carbonica compressi a 4 atmosfere non hanno un'azione nociva sui fermenti e sulle tossine, e che possono paralizzarne l'azione nel caso soltanto che arrestino il metabolismo di quelle cellule che secernono il fermento stesso.

Recentemente il dott. Tarozzi (1) in alcune sue interessanti ricerche sulla biologia dei batteri anaerobi, veniva alla conclusione che la condizione necessaria allo sviluppo di questi germi non è già l'assenza assoluta dell'ossigeno atmosferico nell'atmosfera in cui essi sono posti a svilupparsi, quanto lo stato di riduzione del mezzo nutrizio.

Il Tarozzi riuscì infatti a coltivare aerobicamente sui mezzi comuni batteri anaerobi, purchè nel substrato nutrizio fossero avvenuti energici processi di riduzione. Così se all'agar o al brodo della cultura era stato aggiunto un pezzetto sterile di un organo fresco, oppure del glucosio che agisce riducendo le sostanze ossidate del substrato, i batteri anaerobici vi si potevano sviluppare anche in presenza di aria. L'ossigeno atmosferico non impedisce dunque di per sè lo sviluppo dei batteri anaerobici, ma lo impedisce solo in quanto non permette che avvengano nel substrato nutrizio quei processi di riduzione che sono necessari alla vita del bacterio e che esso da solo non

(1) Tarozzi, *Osservazioni sulla cultura aerobica dei germi anaerobici*. Atti della R. Acc. dei Fisiocritici in Siena, XVII 1905, pag. 105; *Osservazioni sulla natura dei fenomeni che determinano la esigenza anaerobica nelle culture dei germi anaerobici*, loc. cit., pag. 225.

è capace di produrre. Nè è a credere che la sostanza riducente aggiunta al mezzo nutrizio consumi l'ossigeno atmosferico impedendogli così di danneggiare il microorganismo anaerobio; infatti, la semplice aggiunta di glucosio all'agar o al brodo pur esercitando un forte potere riduttore che si manifesta con la decolorazione del bleu di metilene, non basta a permettere lo sviluppo del bacterio. Occorre sterilizzare il brodo glucosato a due atmosfere di pressione di vapore, perchè la riduzione operata dal glucosio sul mezzo nutrizio sia tale da permettere lo sviluppo degli anaerobi. Col tempo questi brodi glucosati e ridotti divengono essi pure inadatti allo sviluppo dei bacteri anaerobi perchè lentamente si riossidano le sostanze che erano state ridotte. G. Grixoni (¹) confermò in massima, le interessanti ricerche del Tarozzi. Questi trovò che il mezzo più adatto allo sviluppo aerobico degli anaerobi era quello costituito da un brodo di recente preparato con l'aggiunta di 6 gocce di carbonato sodico al 10 % ogni 5 cm. di brodo, e di glucosio nelle proporzioni del 2 %. Un tal brodo deve essere sterilizzato nel vapor d'acqua a due atmosfere.

Pensando che i bacteri anaerobici si trovassero, rispetto all'ossigeno alla pressione atmosferica, presso a poco nelle stesse condizioni degli aerobici rispetto all'ossigeno compresso, volli ricercare se non fosse possibile lo sviluppo di bacteri aerobici nell'ossigeno compresso quando il substrato fosse stato energicamente ridotto col metodo di Tarozzi.

Questa previsione fu completamente confermata dall'esperienza. In tubi di brodo alcalinizzato, glucosato e ridotto è infatti possibile un rigoglioso sviluppo dei microorganismi più sopra ricordati, anche sotto l'azione dell'ossigeno compresso a 4-5 atmosfere. Soltanto debbo notare per quel che riguarda la *sarcina aurantiaca*, che essa pur sviluppandosi rigogliosamente perdeva il suo colore aranciato e diveniva di un giallo chiarissimo. Lo sviluppo di colture così eseguite e sottoposte all'azione dell'acido carbonico compresso riuscì invece negativa come quelle eseguite sui mezzi nutrizii consueti.

Dobbiamo dunque ammettere che l'acido carbonico compresso agisca danneggiando direttamente le cellule microbiche come agisce funestamente sulle funzioni del protoplasma in generale, mentre invece l'ossigeno se ha esso pure un'azione dannosa sull'organismo degli animali superiori e sullo sviluppo delle larve di alcuni animali inferiori, non agisce direttamente sulla vita del bacterio se non in quanto gli modifica il mezzo nutrizio. Se questo viene convenientemente ridotto, il bacterio non soffre punto l'azione dell'ossigeno compresso.

(¹) G. Grixoni, *Sulla biologia degli anaerobi*. Giorn. Med. R. Esercito. Luglio 1905.