

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXII.

1915

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIV.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1915

Accompagna il granato, che anche ingloba, la wollastonite in masse bianchissime a struttura fibroso-raggiata, con durezza di 4 a 5 e peso specifico di 2.86.

L'analisi eseguitane poco si discosta da quella calcolata per $\text{Ca}^2[\text{SiO}^3]^2$.

Infatti:

	Trovato	Calcolato
H ² O	0.85	—
SiO ²	50.49	51.82
Al ² O ³	tracce	—
Fe ² O ³	0.54	—
CaO	47.72	48.18
MgO	0.51	—
	<hr/> 100.11	<hr/> 100.00

Fisiologia vegetale. — *Sulla presenza, nelle piante, di composti ematoidi di ferro* (1). Nota II del dott. G. GOLLA, presentata dal Socio O. MATTIROLLO (2).

Nella Nota precedente (3) rilevai la presenza di composti proteici nel materiale grezzo estratto dalle piante, e gli inconvenienti che da ciò derivavano per la preparazione di composti ematoidi di ferro sufficientemente puri, e per la possibilità di arrivare a conclusioni inesatte.

Ad ovviare a questo, mi valse, in una nuova serie di esperienze, della proprietà che l'acido picrico ha di dare, con i composti in questione, dei picrati solubili nell'alcool, etere, acetone, ed in altri solventi organici neutri. Tale proprietà non è comune alle combinazioni proteiche dell'acido picrico. Mi valse, nel maggior numero dei casi, dello stesso materiale grezzo ottenuto per azione degli alcali sull'erba di prato e sulla segatura di pioppo. Dopo qualche giorno di digestione nell'acido picrico in soluzione alcoolica, la combinazione si può estrarre con alcool e etere; assai più rapida è la formazione del picrato se si opera su materiale grezzo di fresco preparato, il quale, dopo precipitazione dalla soluzione alcalina, sia stato lavato ripetutamente con acqua, poi con alcool, e, ancora umido di alcool, sia sottoposto alla picratazione.

Dopo picratazione, l'estrazione del composto si fa assai facilmente e si ottiene una soluzione bruna, contenente però un eccesso di acido picrico.

(1) Lavoro eseguito nel R. Orto Botanico di Torino.

(2) Pervenuta all'Accademia il 13 settembre 1915.

(3) Ved. Rend., vol. XXIV, 20 giugno 1915, pag. 1239. Debbo rettificare un errore nel quale sono incorso in tale Nota; a pag. 1243, linea 11, in luogo di *pirrolo*, leggesi *indolo*.

Tale soluzione, lavata con acqua, perde con molta facilità l'acido in eccesso, e, per ulteriore aggiunta di acqua, anche l'acido combinato si stacca facilmente per idrolisi, così che il composto organometallico precipita allora dalla soluzione, e poi, per successive lavature con acqua, viene totalmente depurato. Una scissione ancora più rapida si può fare con soluzione di bicarbonato di sodio, la quale scioglie il composto ferrifero; dalla soluzione, questo può venire riprecipitato per aggiunta di acido acetico; si raccoglie su filtro il residuo, lo si lava accuratamente con acqua acidula per acido acetico, e poi con alcool, e infine si essicca.

Si ha un corpo bruno solubile in piridina, che, bruciato, lascia per residuo solo ossido di ferro.

Il materiale ferrifero, così ottenuto, non contiene affatto composti proteici e si presta quindi assai per il trattamento con potassa fusa.

Anche in questo caso ottenni, per azione della potassa a 200°-240°, la serie dei composti organici di ferro precedentemente descritti, differenti fra loro per i caratteri di solubilità nell'acido acetico glaciale, ma eguali fra loro per altre proprietà, compresa quella di dare, per riscaldamento con polvere di zinco o di alluminio, dei composti pirrolici.

È da osservare che per azione delle soluzioni acetiche acquose più non si aveva lo sviluppo di odore indoloide, come col metodo di preparazione indicato nella Nota precedente.

La preparazione dei picrati di questi composti ferruginosi costituisce quindi un metodo ottimo per una purificazione preliminare, ed io me ne valse per avere, con un certo grado di purezza, combinazioni ematoidi da *Lactarius controversus*, *Penicillium glaucum*, lievito di birra ecc.

L'impiego di questo metodo vale per estrarre la massima parte di composto ferrifero dal materiale preventivamente preparato per azione della soluzione alcalina sui vegetali; meno generalmente si presta per l'estrazione diretta dalla pianta.

Sembra che il composto ferrifero sia nella pianta legato a sostanze proteiche; e non sempre l'acido stacca facilmente la proteina dal composto organometallico. Risultati abbastanza buoni si ottengono talora facendo agire la macerazione picrica per più giorni; ma in parecchi casi il rendimento è, relativamente, assai scarso.

Anche la necessità di trattare grandi quantità di vegetale rende difficile l'uso di solventi organici e di acido picrico in misura tale da fissare tutti gli alcali e le proteine in essi contenuti. Quando si pensi che, col metodo della soluzione di soda, per ottenere dal legno 170 grammi di materiale impuro occorsero 1000 litri di solvente su un quintale di segatura, e che per un quintale di erba secca ne occorsero 4000, si comprenderanno le difficoltà materiali di tali esperienze.

Operando sui tessuti verdi con solventi organici, occorrono inoltre particolari cautele per eliminare totalmente la clorofilla e i suoi derivati, che possono indurre facilmente a conclusioni errate.

Le esperienze, sopra le quali ho riferito finora, sono state, come già dissi, controllate di frequente mediante saggi condotti in modo analogo su sangue di bue; e le analogie, e spesso anche le identità di comportamento, mi permettono di affermare con un certo fondamento il carattere ematoide delle combinazioni ferriche da me estratte da parecchi vegetali.

Ma un carattere saliente dei composti ematici animali è dato dal fatto che il ferro si trova nella molecola in uno stato di combinazione tale che, per trattamento con HCl in piccola quantità, in mezzo povero o privo di acqua, si forma un legame Fe—Cl particolarmente stabile e caratteristico.

La possibilità di tale legame è subordinata all'esclusione di un qualsiasi trattamento preliminare con alcali acquosi; anche l'emina, quando sia stata dechlorurata con alcali, più non può riprendere il Cl.

Nelle mie esperienze avevo sempre avuto tra le mani combinazioni state preventivamente trattate con alcali, e perciò di tipo ematinico, e quindi incapaci, se fosse stata vera l'analogia con i pigmenti del sangue, di dare la combinazione Fe—Cl. I numerosissimi saggi tentati sopra ogni sorta di estratti sodici di piante svariatissime, fresche o essiccate, non mi hanno mai permesso di arrivare a risultato alcuno.

Ho ricorso allora al trattamento diretto della pianta, senza uso preventivo di alcali.

Ho sperimentato anzitutto il metodo di Zaleski per la preparazione dell'emina acetica, quello che è ora più usato, e che permette di avere prodotti più puri; colle piante verdi non riuscii a nulla. Operando su micelio essiccato di *Penicillum* ebbi risultati incompleti: cioè solo una parte assai piccola di combinazione ferrifera viene estratta, un'altra parte è estraibile solamente con piridina a caldo, e la parte maggiore rimane nel micelio anche dopo questo trattamento.

All'incontro, il metodo di Mörner, secondo il quale si fa preventivamente un estratto con alcool acidulo per H_2SO_4 , e lo si riscalda poi alla ebollizione, previa aggiunta di HCl, ha dato per risultato il distacco quasi completo del ferro dalla molecola organica.

Risultati assai migliori ottenni operando con alcool a 95°, acidificato con il 3% di HCl concentrato.

I tessuti vegetali vengono fatti rapidamente essiccare, meglio ancora previa ebollizione con acqua per ucciderli, poi triturati finamente, estratti con alcool per eliminare clorofilla, lipoidi vari ecc., e fatti di nuovo essiccare; la polvere, così preparata, si addiziona di alcool acidulato, e si scalda in pallone a ricadere per 10-15 minuti; si filtra rapidamente, si sprema il residuo, e al filtrato si aggiungono due volumi d'acqua; dopo 24 ore si filtra,

e il residuo viene raccolto, lavato con acqua acidula per acido acetico, e lasciato essiccare. Il filtrato viene sottoposto a dialisi per 36-48 ore, in capo al quale periodo si ha una separazione di abbondante deposito ferrifero, che viene raccolto, lavato e seccato come il primo composto separatosi; entrambi vengono lavati con alcool e con etere per esportare i lipoidi frammentati, poi con acqua bollente, leggermente acidula per acido acetico, fino a che il liquido di lavatura più non dia reazione di cloruri. Si ha così una polvere bruna leggermente violacea, ricca di ferro, ma contenente ancora qualche altro residuo minerale, specialmente quella ottenuta per semplice diluizione e non per dialisi.

Tale composto, ridotto con polvere di zinco o di alluminio in tubetto riscaldato, dà nettamente la reazione dei pirroli; scaldato con sodio metallico in tubetto di vetro operando come per la reazione di Lassaigne, dà un residuo, che disciolto in acqua, acidificato con acido nitrico, e trattato poi con nitrato di argento, dà la reazione dei cloruri; è solubile in alcool caldo acidificato con HCl, e meglio ancora in piridina. Quest'ultima opera una completa separazione del composto ferrifero dagli altri residui minerali dei quali si è fatto cenno, onde, dopo questa dissoluzione, si può avere un derivato organometallico lasciante per residuo solo ossido di ferro.

Gli altri solventi organici neutri sono senza azione apprezzabile; è soltanto dal *Penicillum* che, previo il trattamento indicato, si può separare dalla parte rimanente solubile in piridina una frazione di combinazione ferrifera solubile in etere, in cloroformio, in etere di petrolio.

Versando la soluzione piridica in alcool acido per HCl, e scaldato alla ebollizione, si ha una soluzione bruna, che, diluita con acqua, o meglio ancora dializzata, dà di nuovo in parte il composto precedente eminoide.

Tra gli altri caratteri di questa combinazione eminoide stanno la solubilità in acido acetico glaciale, la insolubilità nei solventi neutri, la colorazione bruna rossastra delle soluzioni piridiche.

Non ho ancora potuto avere tale materiale ben cristallizzato, quantunque per lenta evaporazione della soluzione acetica abbia potuto osservare la separazione di laminette brune, splendenti, di aspetto cristallino.

Anche questi, come gli altri corpi sopra considerati, danno con acido picrico delle combinazioni solubilissime nei solventi neutri; e anche questi, per azione della potassa a 200°-240°, si comportano come gli estratti ottenuti per azione delle soluzioni alcaline sui tessuti vegetali.

Così anche la possibilità, per parte delle piante, di dare per trattamento con HCl una combinazione organometallica clorurata avente molti caratteri dell'emina, si è potuta avverare.

I risultati migliori li ottenni colle foglie di *Pterocarya caucasica* e con quelle di *Polygonum cuspidatum*; anche altre piante mi fornirono risultati qualitativamente eguali, ma con rendimento minore (tali la crusca di

frumento, il micelio di *Penicillium glaucum*, il tallo di *Boletus edulis*). È da avvertire, infatti, che da specie a specie si possono avere, per trattamento con alcool e HCl, risultati variabilissimi, in quanto frazioni maggiori o minori di ferro totale possono essere estratte in combinazione eminoide; il rendimento minore l'ottenni colla crusca di frumento e col *Boletus edulis*.

Non potrei ancora affermare se, prolungando l'azione dell'alcool acido, tale rendimento sarà maggiore; è da ritenere che questo vario comportamento sia in gran parte in dipendenza dallo stato di combinazione del gruppo cromogeno ferrifero con altri composti organici. È assai probabile che la combinazione del ferro allo stato di nucleoproteide descritta dal Petit sia assai diffusa nelle piante, e che le combinazioni ematoidi da me estratte siano nelle piante in forma di nucleoproteidi, come del resto farebbe pensare anche il comportamento cogli alcali.

Sarà oggetto di studii ulteriori l'esame di questi diversi stati di combinazione; ma già le osservazioni che ho potuto fare finora mi permettono di ritenere che essi siano assai svariati. Per esempio il *Penicillium* cede il composto ematoide già per trattamento con acido picrico alcoolico, e già col metodo di Zaleski si ha, sebbene con difficoltà, una combinazione Fe Cl. La crusca di frumento ha pure dato, come si disse, scarso rendimento col metodo dell' HCl alcoolico, mentre maggiore è quello colle soluzioni alcaline acquose.

Del resto anche lo stesso plasma cellulare oppone una resistenza grandissima alla fuoruscita dei composti ferruginosi; mentre nei globuli di sangue bastano trattamenti assai semplici per lasciare uscire la combinazione proteica del ferro, e per distaccare poi la proteina dal gruppo cromogeno metallifero, nelle piante ciò è straordinariamente difficile; p. es.: se col cloroformio e coll'etere si provoca la fuoruscita del succo cellulare dal lievito di birra o dal *Coprinus comatus*, o dal *Boletus edulis*, o dai fiori di *Chaerops humilis*, si vede che solo una piccola parte dei composti di ferro passa nel liquido, mentre la parte maggiore rimane nelle cellule.

L'esame di tali questioni formerà oggetto di ricerche ulteriori.

Il complesso dei saggi finora eseguiti mi ha condotto alle seguenti constatazioni:

In un gran numero di piante, le più svariate, in modo da far ritenere il fatto come generale, esistono dei composti di ferro organici, i quali:

per la solubilità nelle soluzioni acquose alcaline, per la solubilità in piridina dopo che siano stati staccati dalla molecola proteica, per l'insolubilità negli acidi diluiti, per la proprietà di dare dei picrati solubili nei solventi neutri;

per il comportamento sotto l'azione degli alcali acquosi a caldo che staccano il ferro, per la resistenza agli acidi agenti a caldo in soluzione acquosa, e soprattutto per la resistenza all'azione degli alcali a temperatura

anche di 240°, dimostrano di avere il ferro legato alla molecola organica con una stabilità tale che non è stata finora riscontrata che nei composti ematici del sangue;

per la proprietà di dare coll' HCl alcoolico a caldo dei composti contenenti ancora ferro, e aventi alcuni caratteri dell'emina, e solo allorchè non abbiano risentito l'azione degli alcali;

per i composti pirrolici che da tali combinazioni ferrifere si possono avere, è da ritenersi come assai probabile l'esistenza nelle piante di combinazioni di ferro chimicamente, e forse anche biologicamente, analoghe a quelle che sono caratteristiche del pigmento del sangue di molti animali.

Non è mia intenzione di approfondire molto lo studio della struttura chimica di tali composti, poichè per ciò occorrebbero una cultura e dei mezzi di lavoro che non posseggio; credo riuscirà interessante spiegare il loro valore biologico. È possibile che il nucleoproteide ferrifero estratto dall'orzo da Pictet, che il composto analogo all'ematogene studiato da Stoklasa nella cipolla, che il composto estratto da Tarbouriech e Saget dal *Rumex obtusifolius*, siano tutti da ascrivere allo stesso corpo o gruppo di corpi ematoidi da me studiati.

L'esame dei caratteri spettroscopici, che per ora si limitano ad un assorbimento nella zona del giallo e del verde, quello del rapporto N:Fe, che nei prodotti di scissione dei composti ematici è di 4:1, potranno meglio valere a identificare questi corpi ematoidi.

Ma è inoltre da stabilire quali variazioni qualitative e quantitative abbiano luogo nei diversi periodi della vita della pianta, p. es.; a foglie verdi e ingiallite; quali relazioni essi abbiano cogli enzimi ossidanti: è noto che la perossidasi dello *Schinus mollis* (Schinasi) contiene ferro; è pure noto che Bach ha trovato pirrolo tra i prodotti di scomposizione di alcune perossidasi; si sa anche che l'emoglobina può dare reazioni spiccate di perossidasi, ma non è stabilito se tale proprietà sia insita nel composto stesso, o sia dovuta a sostanze che ne sono difficili a separare; tutto ciò porta a studiare più intimamente il valore del ferro nella fisiologia della respirazione.