

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXVI.

1919

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXVIII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1919

Fisiologia. — *Contributo alla conoscenza degli enzimi. I: Amilasi dell'orzo germogliato* ⁽¹⁾. Nota di D. MAESTRINI, presentata dal Corrisp. S. BAGLIONI.

La pianta, come è noto, a periodi di riposo alterna periodi di attività; in cui produce quantità di sostanze alimentari maggiori del bisogno, che deposita nel così detto *sistema di riserva* (semi o spore).

In questo *sistema*, all'epoca della germinazione, le proteine, i carboidrati, i grassi e i lipoidi depositati, subiscono per opera di speciali fermenti, modificazioni, che li rendono utilizzabili dalla nuova pianta.

Tra i fermenti, che operano queste profonde modificazioni, il più studiato fu l'*amilasi*, come è la più diffusa: essa trovasi in tutte le piante o parti di piante amilifere, nonchè in altre prive di amido, ma capaci di utilizzarlo (es., *aspergillus*, muffe ecc.).

Le *proteasi* richiamarono pure l'attenzione dei ricercatori, furono divise in *fermenti pepsici* (agenti in ambiente acido), che danno la sola peptonizzazione delle sostanze proteiche, ed in fermenti tripsici (agenti in ambienti alcalini), che trasformano i peptoni in aminoacidi. Nei funghi, ad es.: sarebbero *fermenti pepsici*, nei batteri, invece *tripsici*.

Molto poco studiate al contrario furono le *lipasi*: dimostrate nelle piante inferiori (funghi, alghe, muffe, ecc.), nelle piante superiori sono state ricercate soltanto nei semi oleiferi ⁽²⁾.

Anche per molti altri fermenti (seminasi, citasi, pectinasi, emulsina, mirosina, ossidasi ecc.), le indagini possono dirsi appena iniziate ⁽³⁾.

Sia dunque per le vaste lacune, che lo studio degli enzimi vegetali presenta, sia per l'utile pratico, che da indagini accurate e complete potrebbe derivare, sono state intraprese nel nostro Istituto una serie di ricerche. Di esse le prime sono state rivolte all'*orzo germogliato*.

Nella presente Nota riferiamo i risultati sull'*amilasi*, riserbando di riferire sugli altri fermenti in Note successive.

L'*amilasi*, scoperta nel 1914 da Kirchoff ⁽⁴⁾, fu lungamente oggetto di studio.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. S. Baglioni.

⁽²⁾ Cfr. C. Richet, *Diet. de physiologie*, tom. X, fasc. I, pp. 158-160, anno 1919.

⁽³⁾ Cfr. Enciclop. agr. ital., parte I. *Fisiologia vegetale*, pag. 181, anno 1919.

⁽⁴⁾ Cfr. I. Efron, *Les enzymes et leurs applications*, pag. 121, an. 1899, Paris; e C. Richet, *Diet. de physiol.*, tom. VI, pag. 317, an. 1903.

La tecnica da noi seguita fu: Farina di orzo, germogliato ed essiccato al disotto di 40° C., mescolata nelle proporzioni del 30 % con acqua distillata (acidulata mediante ac. acetico al titolo di gr. 0,03 mole ‰), è estratta per 6 ore alla temperatura di 20° C. circa, coll'aggiunta di timolo o di toluolo. L'estratto è filtrato, e, preso di esso varie parti aliquote uguali (di cui alcune bollite, per distruggere il fermento), si aggiunse a ciascuna una determinata quantità di soluzione di amido solubile (2 ‰), e si portarono tutte in termostato, a 37°-40° C. Dopo 24 o più ore di digestione, si calcolava lo *zucchero invertito*, seguendo, con qualche modificazione, il metodo di C. I. Litner⁽¹⁾. Terminata, cioè, la digestione, tutte le prove erano bollite per 10' e filtrate. Contemporaneamente si preparano 6 provette, contenenti ciascuna 5 cm.³ di liquido di Fehling; si fanno cadere da una buretta quantità varie (per es., da 1-6 cc.) di ciascun filtrato da esaminare; si portano le provette in bagno-maria bollente, ove si tengono per 10', indi, mediante acido acetico e ferrocianuro potassico si osserva la provetta, in cui la riduzione è completa, e quella immediatamente precedente, in cui è incompleta. Si ripete la prova più volte, usando quantità varie del liquido della buretta, comprese fra i limiti suddetti, finchè si giunge ad avere il risultato con errori assolutamente trascurabili.

I risultati delle molteplici esperienze eseguite, furono:

1) l'*amilasi dell'orzo germogliato* è estraibile con acqua distillata; più attiva però si presenta nell'estratto acidulato con acido acetico, al titolo di gr. mole 0,03 ‰;

2) per ottenere un liquido molto attivo l'estrazione deve avere una certa durata (almeno 6 ore);

3) l'*amido solubile del commercio* è da questo estratto molto fortemente scisso, anche in ambiente neutro (potere riducente di 1 cm³ di estratto al 30 ‰ = mmgr. 9,6 di zucchero invertito); gli *altri amidi* (di orzo, di patate o di mais) non sono scissi, se prima non ridotti a salda, e se l'ambiente non ha un certo grado di acidità (ac. acetico al titolo di g. mole 0,03 ‰);

4) la diversa origine degli amidi non influisce sensibilmente sull'attività amilolitica;

5) l'*ac. cloridrico* e l'*ac. acetico* agevolano l'azione dell'amilasi pressochè nello stesso modo;

6) l'*idrato di potassio al titolo di gr. mole 0,03 ‰*, agendo per 10 ore, paralizza l'attività amilolitica.

Mediante apparecchi simili a quelli di Shukoff, per la determinazione del punto di solidificazione⁽²⁾, ho anche stabilito la temperatura di distruzione del fermento e la temperatura ottima di azione. Per determinare la prima si sono tenute varie quantità di estratto, per 1/2 ora a diverse temperature, indi si è proceduto, col solito metodo alla digestione in termostato. Per ricercare la seconda, le varie miscele di estratto e di amido furono tenute nei suddetti apparecchi, per alcune ore, a determinate temperature.

7) Da 50° C. in su, il rendimento in zucchero invertito va diminuendo; verso 70° C. è assolutamente nullo. Il massimo rendimento è a circa 45° C.

⁽¹⁾ E. Molinari, *Chimica organica*, pag. 238, an. 1912.

⁽²⁾ Shukoff, *Chem. Zeit.*, 99, 1111, an. 1901.