ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXVII.

1920

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIX.

1° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1920

Come controllo dell'esattezza materiale di questi passaggi di calcolo, possiamo verificare che, per $U = 1$, l'armonica viciniore u si riduce anche essa all'unità, come risulta dalla sua stessa definizione. All'uopo si nota che il potenziale esterno V di una sfera omogenea, di raggio R e densità 1, vale $\frac{4}{3}\pi R^3 \cdot 1/\varrho$. Si ha quindi, per $\varrho = R$,

$$V = \tfrac{4}{3}\pi R^2 \quad , \quad \frac{\partial V}{\partial \varrho} = -\tfrac{4}{3}\pi R \quad , \quad \left(\frac{\partial^2 V}{\partial \varrho^2}\right)_e = \tfrac{8}{3}\pi ,$$

con che il secondo membro della (17) diviene effettivamente $= 1$, e la u, essendo 1 in superficie, si conserva tale anche all'interno.

Si potrebbe verificare più generalmente (ricorrendo per es. allo sviluppo in serie di funzioni sferiche) che $u = U$ ogniqualvolta U è armonica.

Chimica agraria. — *L'azoto del gruppo cianico nella concimazione* (1). Nota di R. Perotti, presentata dal Socio G. Cuboni.

Contributo alla determinazione del meccanismo d'azione dell'azoto cianico nella nutrizione vegetale e delle *condizioni* della sua utilizzazione — a partire da prodotti puri ed in relazione ai miei precedenti lavori sulla calciocianamide (2) — sono gli studi, di cui è oggetto la presente Nota.

In queste ricerche mi valsi del cianuro potassico, recentemente preparato dall'acido cianidrico gassoso e dalla potassa in soluzione alcoolica, che, al controllo di purezza, mi fornì i seguenti dati:

cm. 25 di soluzione all' 1 ‰ del prodotto, precipitarono

cmc. 3,72 di $AgNO_3 \frac{N}{10}$	KCN ‰	gr.	0,96

cmc. 25 della soluzione medesima, precipitarono

cmc. 3.74 di $AgNO_3 \frac{N}{10}$	"	"	0,97
Media	KCN ‰	gr.	0,965
Umidità	"	"	0,026
Impurezze e perdite (K_2CO_3) .	"	"	0,009
Totale . . .		gr.	1,000

(1) Lavoro eseguito nel laboratorio chimico e batteriologico della R. Stazione di patologia vegetale di Roma.

(2) Cfr. per i miei diciotto lavori sulla calciocianamide: Perotti R, *Alcuni capisaldi verso la naturale evoluzione dell'azoto cianamidico nel terreno e delle relative applicazioni nella concimazione agricola*, Staz. sperim. agrarie; 42 (1909), pag. 521.

Prima indagine fu di accertare che l'aggiunta delle sostanze nutritive non azotate alla soluzione di cianuro potassico non apportassero modificazioni alla forma di azoto scelta per allevarvi piante; ed a tale scopo, partendo dalla soluzione all' 1 $^{0}/_{00}$ di KCN, per mille parti di essa, vi aggiunsi successivamente KH_2PO_4 gr. 1 — $MgSO_4 + 7\ H_2O$ gr. 0,3 — $CaCl_2$ gr. 0,05 — Na Cl gr. 0,05 — Fe_2Cl_6 gr. 0,01 — glucosio gr. 2; e determinai nuovamente il cianuro, con il metodo della precipitazione del cianuro argentico, dopo l'aggiunta del fosfato (anal. 1), dopo l'aggiunta dei fosfati e dei cloruri (anal. 2) e, finalmente, una terza volta dopo aggiunto il glucosio (anal. 3). I risultati medî delle doppie determinazioni sono consegnati nel seguente prospetto:

Numero dell'analisi	(1) Soluzione nutritiva cmc.	(2) $AgNO_3\ \frac{N}{10}$ cmc.	(3) $CSN.NH_4\ \frac{N}{10}$ cmc.	Differenza (2 — 3)	(4) KCN $^{0}/_{00}$ gr.
1	25.0	15.0	13.51	1.49	*0.968*
2	25.0	15.0	13.55	1.45	*0.942*
3	25.0	15.0	13.62	1.38	*0.897*

L'influenza dell'aggiunta delle dette sostanze non è trascurabile, poichè il titolo del liquido in KCN va diminuendo, e notevolmente, dopo l'aggiunta del glucosio, e non ostante la presenza dei cloruri che precipitano una frazione, per quanto piccola, della soluzione argentica. Il cianuro, quindi, subisce lievi modificazioni, delle quali va tenuto conto per attribuire ai dati analitici un valore relativo a tali cause di errore, che aumentano con il tempo decorrente dalla preparazione della soluzione. D'altra parte, non era possibile rinunciare completamente al metodo analitico prescelto, che tuttavia permette *in qualche modo* di tenere dietro alla sorte del cianuro dei liquidi colturali.

In un secondo tempo mi proposi di ricercare fino a qual punto avessero influenza i diversi metodi di sterilizzazione su questi liquidi, per tentare eventualmente lo studio con colture pure.

La soluzione della composizione sopra riportata fu ripartita in tre palloni, uno dei quali fu sottoposto al riscaldamento in autoclave a 120° C. per 20 m^1; un secondo fu riscaldato in vapore d'acqua fluente per 20 m^1 e per tre giorni di seguito; il terzo fu pasteurizzato. Le determinazioni del cianuro nel liquido, sottoposto a ciascun trattamento e dopo ciascun giorno, figurano nel seguente quadro:

Numero e specifica dell'analisi	(1) Soluzione nutritiva cmc.	(2) $AgNO_3 \frac{N}{10}$ cmc.	(3) $CSN.NH_4 \frac{N}{10}$ cmc.	Differenza (2 — 3)	(4) KCN °/₀₀ gr.
1 - Controllo	20.0	15.0	13.62	1 38	*0.89*
2 - m¹ 20 in autoclave a 120° C.	20.0	9.7	9.27	0.43	*0.14*
3 - m¹ 20 vap. fluente 1° risc.	20.0	10.0	9.30	0.70	*0.22*
4 - " " " 2° "	20 0	7.1	6.56	0.54	*0.17*
5 - " " " 3° "	10 0	4 8	4.57	0 23	*0.15*
6 - 2 h. a 55° C. 1° risc. .	20.0	10.0	8.80	1.20	*0.39*
7 - " " 2° " .	20.0	10.0	9.03	0.97	*0.31*
8 - " " 3° " ,	10.0	4.1	3.65	0.45	*0.29*

Adunque, la sterilizzazione in autoclave porta alla immediata totale scomposizione del cianuro, in quanto il precipitato argentico residuo non può esser dovuto se non ai cloruri. Lo stesso grado di trasformazione del cianuro si raggiunge dopo il terzo riscaldamento in vapore d'acqua fluente, ma essa è quasi completa fino dal primo riscaldamento. Secondo quanto è noto, deve verificarsi la reazione

$$KCN + 2H_2O = NH_3 + H.COOK.$$

Soltanto alla pasteurizzazione resiste una certa proporzione del cianuro, che può aggirarsi intorno ad $^1/_3$ della quantità iniziale.

A nessuno di questi metodi di sterilizzazione era possibile quindi far ricorso nel mio studio in cui mi limitai a prendere le mosse dall'allestimento di colture brute.

Preparai pertanto cmc. 1000 di liquido colturale, corrispondente alla composizione del precedente; lo ripartii in cinque bevute, versandone in ognuna cmc. 200 ed aggiungendo KCN nelle proporzioni di 1, 0.75, 0.50, 0.25. La quinta bevuta, con cianuro all'1 °/₀₀, fu mantenuta sterile con l'aggiunta di poche gocce di cloroformio, mentre le altre quattro furono inoculate con gr. 0.2 di buona terra da giardino. Tutte si mantennero in termostato a 25° C.

Dopo 14 giorni, durante i quali lo sviluppo non fu macroscopicamente evidente in alcuna delle colture, procedei alla determinazione del cianuro nei liquidi, filtrandoli e riportandoli al primitivo volume. I risultati ottenuti furono i seguenti:

Liquido colturale	Cianuro potassico iniziale gr.	finale gr.
Controllo	0.88	*0.29*
I all'1 ‰ . . .	0.88	*0.26*
II al 0.75 » . . .	0 66	*0.21*
III » 0 50 » . . .	0.44	*0.15*
IV » 0.25 » . . .	0.22	*0.12*

Si deduce come nello stesso controllo il cianuro abbia subìto trasformazioni per le quali è stato ridotto alle proporzioni di circa $^1/_3$ del quantitativo iniziale. Lo stesso rapporto non è evidente nei liquidi colturali III e IV, dove, per la maggiore diluizione, il precipitato argentico è dato quasi esclusivamente da cloruri. In essi non vi era più traccia di cianuro.

L'azione microrganica non risultò pertanto *accertata* con la suesposta ricerca: essa era sospettabile, specialmente nel liquido III a media concentrazione di KCN. Volli ritenere che essa, da un lato, fosse ostacolata dall'azione antisettica del cianuro, dall'altro lato, non sufficientemente favorita dalla piccola dose di glucosio impiegata.

Preparai quindi due bevute con cmc. 500 ciascuna di liquido colturale, contenente cianuro di potassio soltanto in proporzione del 0.5 ‰ e glucosio nelle proporzioni del 20 ‰. Uno dei liquidi fu mantenuto sterile mediante cloroformio; l'altro venne inoculato con gr. 0.2 di terra da giardino.

In questo caso lo sviluppo fu evidentissimo, anzi rigoglioso, specialmente per ifomiceti. Dopo 14 giorni di coltura, raccolsi su filtro tarato e pesai la parte insolubile contenuta nelle bevute; mentre nel liquido determinai l'azoto totale. Ottenni i seguenti risultati:

Determinazioni	iniziali	finali nel controllo	finali nella coltura attiva
	gr.	gr.	gr.
Sostanza insolubile secca	0.1094	0.1094	*0.2790*
N nel liquido	0.058	0.058	*0.017*

Si dimostra, adunque, l'abbondante formazione di corpo organizzato, mentre la piccola quantità di azoto residuo nel liquido indica che una gran parte dell'azoto fu utilizzato nella formazione del corpo stesso. Ed invero, nella coltura, anche con produzione di gas, si ottenne il più attivo sviluppo di microrganismi di ogni specie.

La prova fu ripetuta, con lo stesso metodo, impiegando due differenti concentrazioni di KCN: 1 e 0.5 ‰. Questa volta si ottenne abbondante

sviluppo anche nel liquido più concentrato. Lo sviluppo fu evidentissimo *fin dalle prime 24 ore, con pronta diminuzione del titolo del liquido in* KCN, in confronto dei controlli.

In acconce condizioni colturali, adunque, e principalmente in presenza di una conveniente proporzione di materiale sorgente di energia, nel presente caso, di glucosio, svariate forme di microrganismi utilizzano nella nutrizione l'azoto del KCN. Questa utilizzazione richiede inoltre che il mezzo colturale non presenti un titolo in KCN tale da uccidere il materiale di innesto.

Nelle ordinarie condizioni del terreno, tale circostanza è facilmente realizzabile, mentre l'utilizzazione del gruppo cianico è *praticamente* cosa certa.

Se però tale utilizzazione sia dovuta ad un *diretto* attacco del protoplasma o delle sue secrezioni, od anche ad un attacco meno diretto per i prodotti delle sue reazioni vitali, con il mezzo ambiente, è questione che non può ancora con certezza risolversi e difficilmente, forse, potrà esserlo in seguito; poichè non si vede come possa scindersi l'eventuale fenomeno vitale dal fenomeno puramente chimico o fisico chimico che nel mezzo di sviluppo potrebbe portare alla trasformazione dell'azoto del gruppo $-C \equiv N$ sino allo stadio di azoto ammoniacale.

Mi sembra tuttavia lecito affermare fino da questo momento, come l'attacco diretto da parte del protoplasma del gruppo cianico sia molto probabile.

Patologia. — *Saggi farmacodinamici sottoepidermici.* A): *La prova della pituitrina.* B): *Prove cliniche.* Nota II dei professori Maurizio Ascoli ed Antonio Fagiuoli, presentata dal Socio Battista Grassi.

Proseguendo nel piano tracciato nella I Nota che abbiamo avuto l'onore di comunicare a quest'Accademia [1], riferiamo oggi brevemente sulla prova della pituitrina.

Praticando con le modalità già indicate una iniezione sottoepidermica (s. e.) di 0,05 cmc. di pituitrina (Parke e Davis), si determina la comparsa di un ponfo alabastrino, attorno al quale si va tosto formando un alone bianco che cresce man mano di intensità e di estensione; l'alone bianco si circonda a sua volta di un alone rosso, variabile per ampiezza e intensità di colorito. La reazione raggiunge, solitamente entro mezz'ora, il suo completo sviluppo, dopodichè lentamente regredisce, di regola entro un paio d'ore, e ne residua una piccola macchia rossa che dura uno o più giorni.

La reazione s. e. alla pituitrina collima dunque con quella offerta da diluizioni di adrenalina allo 1/200,000 circa. In condizioni ordinarie essa riesce ancora evidente — pur ritardando la comparsa del proprio elemento

[1] Atti R. Accad. dei Lincei, vol. XXVIII, serie 5ª; 1° sem., fasc. 12.