

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXC.

1893

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME II.

2° SEMESTRE



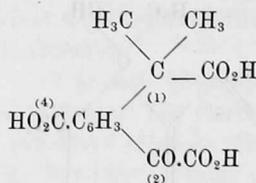
ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

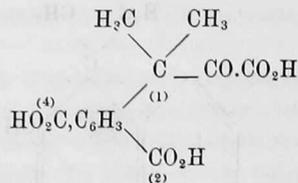
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1893

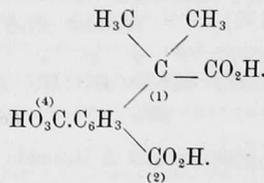
Acido inegenonetricarbossilico



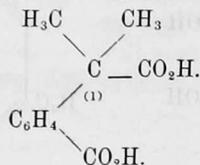
Acido jonegenonetricarbossilico



Acido joninegentricarbossilico



Acido dimetilomoftalico



Microbiologia. — *Sopra l'azione dell'ozono sopra alcuni microrganismi.* Nota di GIULIO TOLOMEI, presentata dal Socio BLASERNA.

« L'ozono è senza alcun dubbio uno dei più energici microbicidi che si conoscano, e secondo alcuni basterebbero semplicemente delle tracce di questo corpo nell'aria per renderla perfettamente sana e distruggere tutti i germi che si trovano in essa. Ora tutto questo ha semplicemente del poetico ed una grande quantità di fatti sta a dimostrare che ciò non è affatto vero.

« Qualche anno addietro, partendo dal fatto che il latte spesso durante i temporali inacidisce rapidamente, feci alcune esperienze, le quali mi condussero a concludere che il fenomeno doveva essere attribuito a piccole quantità di ozono che si rinvenivano in tali condizioni nell'aria (1). Mi fu fatto osservare che l'ozono è un antisettico per eccellenza, e che quindi era impossibile ammettere che fosse dovuto ad esso il rapido inacidimento del latte. Anzi si aggiungeva che per conservare a lungo il latte, come molte altre

(1) *Le Stazioni sperimentali agrarie italiane*, vol. XVIII, fasc. II.

sostanze organiche, è sufficiente rinchiuderlo in recipienti entro i quali sia introdotta una certa quantità di ossigeno ozonato. Tutto questo sta bene; ma nessuno ha mai fatto attenzione alle proporzioni in cui si deve trovare l'ozono perchè il fenomeno avvenga. Ed io stesso, all'epoca delle anzidette esperienze, non mi sapevo spiegare dei risultati contraddittori a cui spesso giungevo. Per altro, siccome era certo che il latte contenuto in un recipiente aperto, posto in vicinanza di una macchina elettrica in azione, inacidiva molto più presto di quello munto nello stesso tempo e conservato lontano da ogni influenza esterna, ed il fenomeno non poteva essere attribuito all'elettricità, ne conclusi che era realmente all'ozono, di cui si rinvenivano delle tracce nell'aria durante i temporali, che era dovuto il rapido inacidimento del latte. Vi fu del resto in Germania chi ritenne tanto giusta la spiegazione che propose il rimedio, da applicarsi nelle grandi latterie, dove il fenomeno in questione reca spesso gravi danni, e che doveva consistere nel trattare il latte con l'idrogeno nascente.

« Non mi occupai più da quell'epoca di ricerche sul latte, contentandomi solo di osservare, e di fare osservare, se, quando si produceva un temporale, aveva luogo il fenomeno, e se quando si verificava esisteva l'ozono nell'aria. In tre anni quattro volte ho potuto riscontrare che quando le carte ozonoscopiche accennavano a piccolissime quantità di ozono esistenti nell'aria, il latte inacidiva più presto che nelle condizioni ordinarie.

« Ma se non continuai le ricerche sul latte, ne feci altre sopra alcuni microrganismi, le quali mi condussero a risultati che non credo privi di una certa importanza, perchè sono in contraddizione con molto di ciò che si crede sulle proprietà dell'ozono, spesso senza alcun fondamento e senza ricercare, per mezzo di esperienze dirette, se quello che si afferma si verifica poi realmente. L'ozono ha molte delle proprietà che gli si attribuiscono, quando si trova nell'aria in quantità tale che chiunque può riconoscerne la presenza per mezzo dell'odorato; ma quando è in quantità piccolissima e l'odore non è più avvertibile, o lo è solo da chi ha squisitissimo il senso dell'odorato ed ha una lunga pratica in esperienze di questa specie, le cose cambiano e l'ozono diviene un elemento che attiva lo sviluppo dei microrganismi.

« Io ho fatto le esperienze solamente sopra il *Saccharomices ellipsoideus* I, il *Saccharomices cerevisiae* ed il *Mycoderma aceti*; ma non è arrischiato l'ammettere che quello che succede per questi microrganismi avvenga anche per molti altri.

« Le prime esperienze furono fatte sul *S. ellipsoideus* ricavato con una serie di culture da un mosto di Chianti. Il mosto adoperato per studiarvi l'azione del fermento sotto l'influenza dell'ozono aveva il peso specifico 1,025 e conteneva 129^{gr},58 di zucchero per litro. A questo liquido precedentemente sterilizzato fu aggiunto il fermento e ne fu posto un litro in ciascuno di 5 recipienti cilindrici di vetro che furono collocati, sopra treppiedi di ferro ver-

niciato, in cinque bacinelle di terra cotta contenenti uno strato di 3^{cm} di acqua e furono ricoperti con delle campane di vetro che, pescando nell'acqua, chiudevano ermeticamente lo spazio in cui si trovavano i vasi. Alla chiavetta di ciascuna campana fu unito un piccolo tubo di vetro piegato ad *u* contenente dell'acqua nella parte curva, che doveva funzionare da valvola di sicurezza per lasciar sfuggire l'anidride carbonica nel caso che si sviluppasse in grande quantità. Per introdurre l'ossigeno ozonato nelle campane mi servivo di un tubo cilindrico terminato in punta ricurva, graduato, e nell'interno del quale scorreva uno stantuffo di sughero. Riempiendo di gas il cilindro ed introducendo la punta sotto la campana, mentre questa era tenuta leggermente sollevata, senza fare uscire il suo orlo dall'acqua, si poteva far penetrare nell'interno di essa, facendo avanzare lo stantuffo, una quantità determinata di ossigeno ozonato. Il metodo non è certo il più rigoroso per avere con esattezza matematica la quantità di ossigeno ozonato introdotta nella campana; ma per le determinazioni che mi ero proposto di fare poco importava, giacchè io non volevo sapere quali quantità di ozono sono necessarie per impedire lo sviluppo dei microrganismi, ma semplicemente cercare quali differenze vi sono fra l'azione di piccolissime quantità di ozono e l'azione di quantità rilevanti. Credo inutile aggiungere che vasi, campane, bacinelle, acqua ecc. furono accuratamente sterilizzati prima di intraprendere le esperienze.

Le campane furono distinte con i numeri 1, 2, 3, 4 e 5. Nella prima fu posto il recipiente col mosto che doveva servire come termine di confronto; nella seconda era introdotta mattina e sera una quantità di ossigeno ozonato tale che la quantità di ozono contenuta nell'aria della campana fosse all'incirca di 0,5 per mille; nella terza la quantità di ossigeno ozonato era tale che si avesse nell'aria circa l'uno per mille di ozono; nella quarta circa il 5 per mille e nella quinta il 10 per mille.

Perchè l'aria delle cinque campane fosse nelle stesse condizioni, salvo a contenere una quantità più o meno grande di ozono, introducevo in ciascuna di esse una quantità di ossigeno tale da portare la ricchezza dell'aria in ossigeno uguale a quella dell'aria contenuta nella campana n. 5, tenendo conto, s'intende bene, dell'ossigeno che veniva introdotto insieme all'ozono. Lo spazio occupato dall'aria in ciascuna campana era di circa 5270^{cm}³, e siccome sapevo che l'ossigeno da me preparato conteneva il 13 % di ozono, mi era facile introdurre sotto ciascuna campana le quantità di ozono sopra accennate e le quantità di ossigeno necessarie perchè in ogni campana si trovasse la stessa quantità di questo gas.

Si capisce però facilmente che queste condizioni non si potevano mantenere, giacchè l'ozono e l'ossigeno si scioglievano nel mosto e nell'acqua e da questa uscivano nell'aria. Per questo mattina e sera era introdotta sotto ogni campana la quantità di ossigeno ozonato indicata, ed ogni mattina era cambiata affatto l'aria di ciascuna campana ed era introdotto l'ossigeno. Pure

ogni mattina erano pesati i recipienti contenenti il mosto per avere con una certa approssimazione la quantità di anidride carbonica prodottasi nella fermentazione.

« Sapendo che 43^{gr.},67 di anidride carbonica corrispondono a 100^{gr.} di zucchero decomposto, mi era facile calcolare giorno per giorno la quantità di zucchero decomposto e quindi determinare quale era l'attività della fermentazione.

« Avrei potuto calcolare anche la quantità di alcool ottenuto, sapendo che 100^{gr.} di zucchero d' uva danno 48^{gr.}, 46 di alcool, ma mi è sembrato inutile per quello che mi interessava di sapere.

« Nella seguente tabella sono raccolti i risultati ottenuti :

Data	Zucchero decomposto per litro				
	n° 1	n° 2	n° 3	n° 4	n° 5
24 Settembre 92	gr. 0	0,92	0,84	0	0
25 "	5,24	6,22	2,81	1,80	0
26 "	19,25	20,18	8,75	1,80	0
27 "	29,58	32,15	12,87	1,82	0
28 "	44,65	47,17	19,32	1,82	0
29 "	55,84	60,08	27,08	1,84	0
30 "	69,26	70,25	29,84	1,86	0
1 Ottobre 92	80,48	84,32	31,15	1,86	0
2 "	93,10	97,15	31,96	1,86	0
3 "	106,14	111,68	39,02	1,86	0
4 "	117,26	121,68	43,15	1,87	0
5 "	120,15	127,20	49,17	1,87	0

« Questi risultati sono più che sufficienti per dimostrare che l'ozono in quantità piccolissima, lungi dal contrariare lo sviluppo del fermento ellittico, lo favorisce; ed hanno maggior valore giacchè non sono i soli ottenuti, essendo state ripetute le esperienze più volte, variando anche le quantità di ozono, e avendo sempre condotto a risultati analoghi.

« Mi ero proposto, dopo essere arrivato a questa conclusione, di determinare anche quale è la quantità, dirò così *limite*, di ozono, al disopra della quale questo corpo è microbicida e al disotto invece favorisce lo sviluppo dei microrganismi; ma non vi riuscii perchè tale quantità è senza alcun dubbio legata con la temperatura del mosto e forse dipende da altre cause che non è troppo facile determinare.

« Oltre alle esperienze sopra descritte, nelle quali giudicavo dell'attività del fermento dalla quantità di zucchero decomposto, ne feci altre per studiare l'azione dell'ozono sopra i fermenti che si trovano nei vini giovani alla pri-

mavera. Le prove furono eseguite sopra un vino di Chianti buonissimo, abbastanza dolce, e contenente ancora buon numero di saccaromiceti. Di questo vino fu posto un litro in ciascuno dei cinque recipienti adoperati precedentemente e i recipienti stessi furono collocati sotto le rispettive campane; ma l'ossigeno ozonato, invece di essere introdotto in quest'ultime col metodo precedente, era fatto gorgogliare nel liquido per mezzo di un tubo, che scendeva fino quasi al fondo del recipiente, e passava quindi a traverso al vino prima di disseminarsi nell'aria della campana.

« Le quantità per mille di ozono adoperate furono le stesse di quelle adoperate prima, e cioè 0,5 nella campana n. 2; uno nella campana n. 3; 5 nella campana n. 4 e 10 nella campana n. 5. Il rinnovamento del gas era ripetuto ogni mattina, ed i recipienti erano collocati in un ambiente la cui temperatura media era di 21°.

« Per avere il numero dei microrganismi contenuti in un dato volume di vino prendevo con una pipetta sterilizzata, e sempre alla medesima profondità, 1 cm³ di liquido, lo diluivo con acqua sterilizzata e lo seminavo in gelatina contenente del mosto concentrato.

« La gelatina veniva versata nelle capsule di Petri e dopo qualche giorno di permanenza nel termostato dava il mezzo di enumerare le colonie di saccaromiceti sviluppatasi. Da questi numeri era facile passare a quelli che esprimevano il numero di saccaromiceti contenuti in 1 cm³ del vino preso a studiare. Per ogni campione di vino furono adoperate 4 capsule, e poi fu fatta la media dei risultati ottenuti dalle quattro culture. I numeri ottenuti sono raccolti nella tabella seguente:

Data	Colonie di saccaromiceti esistenti in 1 cm ³ di vino				
	n° 1	n° 2	n° 3	n° 4	n° 5
15 Aprile 93	1326	1584	1218	1222	1048
18 "	10748	13712	4614	816	724
21 "	18964	20614	7218	268	262
24 "	29716	34810	5724	146	124
27 "	28614	38716	4384	62	46
30 "	23416	36418	2716	18	10

« Questi numeri confermano nel modo più evidente i risultati ottenuti nelle precedenti esperienze.

« Le stesse ricerche furono eseguite sul *Saccharomyces cerevisiae*, e siccome furono condotte con gli stessi metodi e diedero i medesimi risultati, credo inutile riportarle. Piuttosto riferirò intorno alle esperienze fatte sul *Mycoderma aceti*, sembrandomi che ne valga la pena.

« Il liquido adoperato era vino bianco avente la composizione seguente:

Alcool in volume	9,9 %
Acidità complessiva espressa in acido tartarico gr.	6,22 per litro
Acidi volatili espressi come acido acetico	0,38 "
Bitartrato potassico	1,78 "
Acido tannico	0,29 "
Zucchero	0,14 "
Estratto secco	19,15 "

« A questo vino aggiunsi il 3 % di acido acetico, e la quantità di acqua necessaria per portare la ricchezza alcoolica al 5 %; indi, per sterilizzarlo completamente, lo feci bollire per circa tre ore in un refrigerante a ricadere e lo raccolsi in un pallone che chiusi con un tappo di cotone sterilizzato. Il liquido così ottenuto conteneva:

Alcool in volume	5,02 %
Acido acetico	3,02 "

« Il liquido fu distribuito in cinque bottiglie a collo molto largo nel quale era adattato un turacciolo avente due fori per lasciar passare, a tenuta, due tubi; uno dei quali doveva servire ad introdurre nell'interno l'ossigeno ozonato e l'altro per fare la misura del gas assorbito. Ecco come procedevo per tale determinazione.

« Il tubo era riunito per mezzo di un tubo di gomma elastica con un altro tubo uguale che penetrava per un piccolo tratto, attraverso un turacciolo di gomma, in una bottiglia lunga e di piccolo diametro, della capacità di circa un litro, munita in basso di chiavetta. Il tutto chiudeva perfettamente, dimodochè il *Mycoderma* non poteva assorbire il gas necessario al suo sviluppo che dall'aria contenuta nelle due bottiglie. Ogni mattina la tubulatura del fondo era unita mediante un tubo di gomma elastica, precedentemente ripieno d'acqua, con quella, pure situata alla base, di una provetta graduata in cm³, piena di acqua distillata. Aprendo le due chiavette, l'acqua penetrava nella prima bottiglia e quando era disposta allo stesso livello nei due recipienti, la quantità di liquido entrata occupava precisamente un volume uguale a quello del gas consumato. Leggendo allora l'abbassamento del livello dell'acqua nella provetta si aveva, a meno di un centimetro cubo, il volume del gas assorbito. I volumi così trovati erano poi ridotti, per renderli comparabili, alla temperatura di 0° e alla pressione di 76^{cm} di mercurio.

« È inutile che aggiunga che variando da un giorno all'altro la temperatura e la pressione, bisognava tener conto di tali variazioni prima di fare la riduzione anzidetta.

« Il liquido era seminato tutte le mattine, toccandolo con la punta di una bacchetta di vetro con la quale era stata toccata la superficie del liquido contenente il *Mycoderma*. Il *Mycoderma* adoperato per la semina era stato

coltivato in vino bianco identico a quello posto nelle bottiglie; era purissimo e nello stato di proliferazione.

« Le bottiglie furono distinte coi numeri 1, 2, 3, 4 e 5: nella prima era lasciata l'aria nelle condizioni ordinarie; nella seconda era introdotta ogni mattina una quantità di ozono uguale a 0,5 per mille; nella terza una quantità di ozono uguale all'uno per mille; nella quarta una quantità di ozono uguale al 5 per mille e nella quinta uguale al 10 per mille. L'aria veniva completamente rinnovata ogni mattina per mezzo di un aspiratore, e con lo stesso mezzo era introdotto nelle bottiglie l'ossigeno ozonato.

« Nella seguente tabella sono raccolti i risultati ottenuti:

Data	Volume del gas assorbito in cm ³ ridotto a 0° e alla pressione di 76cm				
	n° 1	n° 2	n° 3	n° 4	n° 5
7 Maggio 93	5	7	6	2	2
8 "	43	51	46	3	2
9 "	76	82	62	2	0
10 "	108	122	84	4	0
11 "	112	131	122	3	0
12 "	138	148	133	2	0
13 "	146	152	166	6	0
14 "	135	164	157	5	0
15 "	124	138	129	9	0
16 "	108	142	137	3	0
17 "	119	146	141	8	0
18 "	118	172	152	11	0
19 "	126	158	139	2	0
20 "	132	164	151	3	0
21 "	138	168	146	5	0
22 "	126	156	144	7	0
23 "	113	162	143	10	0
24 "	120	153	151	9	0
25 "	132	168	153	4	0
26 "	138	157	148	3	0
27 "	114	168	138	6	0
28 "	122	152	152	5	0
29 "	120	163	149	3	0
20 "	126	156	122	3	0
31 "	135	167	154	3	0

« Questi risultati confermano quello che ho detto precedentemente, e cioè che l'ozono in piccolissime proporzioni invece di essere microbicide favorisce lo sviluppo di alcuni microrganismi. Ciò posto mi pare che dovrebbe essere di grande interesse il ricercare se questo fatto si verifica anche per i batteri patogeni ».

RELAZIONI DI COMMISSIONI

Il Socio CERRUTI, relatore, a nome anche del Socio BELTRAMI, legge una Relazione colla quale si propone la inserzione negli Atti accademici, di una Memoria del prof. T. DEL BECCARO, intitolata: *Sopra il teorema di Wilson generalizzato*.

Le conclusioni della Commissioni esaminatrici, messe ai voti dal Presidente, sono approvate dalla Classe salvo le consuete riserve.

PRESENTAZIONE DI LIBRI

Il Segretario BLASERNA presenta le pubblicazioni giunte in dono, segnalando quelle inviate dai Corrispondenti PALMIERI e MATTIROLO, dal Socio straniero MAREY e dai signori BIRKELAND e SURASIN.

Il Segretario TOMMASI-CRUDELI offre una copia della traduzione inglese, fatta dal capitano C. CRAMOND DICK, della sua opera sul *Clima di Roma*.

Il Socio CANIZZARO presenta, a nome degli autori, una Memoria a stampa dei signori THIEMANN e KRUEGER.

Il Socio BETOCCHI fa omaggio di due pubblicazioni dell'architetto F. AZZURRI, e ne discorre.

Il Socio MARIOTTI presenta l'opera del prof. MERZARIO: *I Maestri Comacini* e ne fa notare l'importanza per la storia artistica d'Italia di dodici secoli, dal 600 al 1860.

CORRISPONDENZA

Il Segretario BLASERNA dà conto della corrispondenza relativa al cambio degli Atti: