

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA NAZIONALE  
DEI LINCEI

ANNO CCCXIX.  
1922

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI  
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1922

Biologia generale. — *Azione ionizzante degli enzimi* <sup>(1)</sup>. Nota di L. PETRI, presentata dal Socio ORESTE MATTIROLO <sup>(2)</sup>.

È stato ammesso recentemente (Barendrecht) <sup>(3)</sup> che, almeno per alcuni enzimi, come quelli dei disaccaridi e l'ureasi, l'azione specifica si svolga per irraggiamento di energia che verrebbe completamente assorbita dalle molecole della sostanza fermentescibile. Questa concezione, che può essere considerata come una modificazione della vecchia idea del Liebig <sup>(4)</sup> sul meccanismo d'azione degli enzimi, trova un appoggio nei risultati dello studio sulla velocità della reazione per condizioni diverse di concentrazione dell'enzima e della sostanza su cui questo agisce, e non è in antitesi con le opinioni attualmente dominanti [Lewis <sup>(5)</sup>, Dhar <sup>(6)</sup>, Trautz <sup>(7)</sup>, Perrin <sup>(8)</sup>] sul meccanismo d'azione dei catalizzatori chimici e sulla natura dell'energia che è causa diretta dell'attivazione delle molecole, capaci di reagire in un sistema chimico in trasformazione (Langevin). D'altra parte alcuni dei processi di sintesi e di scissione che nell'organismo vivente sono effettuati da enzimi, si possono ottenere sperimentalmente *in vitro* sotto l'azione dei raggi ultravioletti.

Possono quindi ritenersi giustificate quelle ricerche che per altre vie possono esser tentate per trovare una conferma dell'attendibilità delle nuove vedute esposte dal Barendrecht. Così ci si può porre il quesito se enzimi attivi, in presenza di minime quantità della sostanza da modificare, disperdano una parte dell'energia emessa dalla loro molecola, e se una simile dispersione possa dar origine a fenomeni secondari, apprezzabili e misurabili con mezzi d'indagine convenientemente sensibili.

<sup>(1)</sup> Ricerche eseguite nel Laboratorio di Patologia e Fisiologia del R. Istituto Superiore Forestale di Firenze.

<sup>(2)</sup> Pervenuta all'Accademia il 24 luglio 1922.

<sup>(3)</sup> Recueil des travaux chim. des Pays-Bas, ser. IV, tom. 39, 1920, pp. 2-87. Cfr. anche Zeitschr. f. phys. Chemie, 40, 1904, pag. 456, Biochem. Journ., 1913, pag. 559.

<sup>(4)</sup> Ann. d. Chem. u. Pharm., 30, 1839, pp. 250, 263.

<sup>(5)</sup> Journ. Chem. Soc., 1914, pag. 2330; Scientia, XXV, 1919, pag. 450.

<sup>(6)</sup> Proc. Kon. Akad. Wetensch., Amsterdam, 1916; Journ. Chem. Soc., 1917, pag. 690.

<sup>(7)</sup> Z. an. Chem., 104.

<sup>(8)</sup> A. Ph., IX, II, 5.

Mancando per ora qualsiasi dato intorno alla natura della presunta radiazione degli enzimi (1), ho ritenuto interessante stabilire se l'aria che trovasi a contatto della superficie libera di un liquido contenente un enzima attivo, diventi in modo apprezzabile conduttrice dell'elettricità, in confronto a quando l'enzima sia reso inattivo, conservando inalterate le altre condizioni dell'esperienza.

Come è noto, la ionizzazione dei gas costituisce un fenomeno rivelatore oltremodo sensibile di alcune forme di irradiazione di energia, tanto che oggi siamo in grado di svelare tracce infinitesime di sostanze radioattive basando il metodo di ricerca sopra l'azione ionizzante di quest'ultime, metodo che è ancora più sensibile di quello spettroscopico.

Nelle mie ricerche ho adoperato un elettroscopio a foglia di alluminio, di capacità elettrica minima e la cui sensibilità è tale da rendere apprezzabile e misurabile la corrente di saturazione prodotta nell'aria da gr. 20 di solfato di potassio in polvere ripartito in uno strato di 2 mm. di spessore e di 65 cm<sup>2</sup>. di superficie. Una simile corrente di saturazione, paragonata a quella prodotta dall'ossido di uranio (U<sub>3</sub>O<sub>8</sub>) ha l'intensità di 1,44. 10<sup>-14</sup> ampère e per cm<sup>2</sup>. 2.21. 10<sup>-16</sup> amp. (2).

L'elettroscopio è stato costruito appositamente sul tipo del microelettroscopio di C. T. R. Wilson, in cui la foglia e la piccola asta che la porta funzionano direttamente da corpo di dispersione nella camera di ionizzazione, o, più esattamente, è la stessa scatola metallica in cui è contenuta la foglia che forma una delle armature del condensatore di misura, mentre la foglia e il suo supporto costituiscono l'altra armatura. Un dispositivo particolare permette di rendere secca l'aria che è a contatto dell'isolante (ambra) in cui è fissata l'asta. Un microscopio, con oculare micrometrico, ingrandisce 160 volte gli spostamenti del sistema mobile dovuti alla dispersione della carica. È così reso possibile di utilizzare un piccolissimo angolo di deviazione, evitando le cause di errore dovute alla variazione della sensibilità ai volt e alla variazione della capacità in dipendenza dell'angolo di deviazione.

La maggiore sensibilità è compresa fra 200 e 300 volt. La variazione minima apprezzabile del potenziale è di 0,16 volt. La fuga spontanea è di 0,0009 volt sec. nell'aria secca.

I risultati delle prime ricerche eseguite sono stati i seguenti: come agenti ionizzanti si sono dimostrati sino ad ora completamente inattivi i

(1) Secondo Barendrecht dalla molecola dell'enzima sarebbero emessi elettroni.

(2) La debole radioattività del potassio, dovuta all'emissione di raggi  $\beta$  e  $\gamma$ , fu scoperta nel 1905 da J. G. Thomson (Philos. Mag., X, pag. 584) e confermata poi da N. R. Campbell (Proc. Cambridge Philos. Soc., XIV, 1906-08). Più recentemente è stata sottoposta a rigoroso controllo e misura da E. Henriot (Ann. de Chimie et Physique, XXV, XXIV, 1912), il quale ha trovato che uno strato di K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puro (Kahlbaum) determina una corrente di saturazione di 2,74. 10<sup>-16</sup> amp. per cm<sup>2</sup>. (gr. 0,5).

preparati secchi, in polvere, di enzimi che si trovano in commercio (pepsina, amilasi, pancreatina, tripsina) convenientemente posti in acqua a reazione acida, neutra o alcalina secondo i casi. Apprezzabilmente attivo si è rivelato un preparato di pancreas secco ottenuto secondo il metodo di Kühne e fornito alcuni anni fa dalla ditta G. Grübler di Lipsia. Con nuovo materiale, acquistato ultimamente, i risultati sono stati negativi. Devo far notare però che si trattava in questo caso di un preparato in polvere con caratteri del tutto simili alla pancreatina delle farmacie

Incoraggianti sono stati i risultati ottenuti col materiale fornito da tessuti vegetali vivi contenenti enzimi, come lo *scutello* delle cariossidi germinanti di *Zea Mays* ed i semi di *Soja hispida*.

Come è noto, lo scutello dell'embrione delle graminacee è un organo eminentemente secretore, che entra in funzione durante la germinazione seccernendo una quantità relativamente grande di citasi e di amilasi per la digestione delle riserve idrocarbonate contenute nell'albume. Per effettuare le esperienze si è proceduto nel modo seguente. Gr. 5 di scutelli, isolati dalle cariossidi in germinazione, erano pestati nel mortaio con polvere di vetro e un po' d'acqua distillata. La poltiglia così ottenuta era versata in una bacinella di vetro del diametro di 9 cm. e posta nella camera di ionizzazione dell'elettroscopio, alla distanza di 8 cm. dalla foglia di alluminio. L'esperienza veniva iniziata dopo mezz'ora da che l'apparecchio era stato caricato, per evitare l'errore dovuto a un assorbimento di carica da parte dell'isolante. Antecedentemente a ciascuna esperienza, veniva eseguita una prova di controllo ponendo nella camera di ionizzazione la stessa bacinella di vetro con poltiglia di scutelli di granturco sottoposti per 20 minuti a una temperatura di 100° C.

Numerose esperienze hanno dato dei risultati quasi costanti che possono essere riassunti come segue:

		Tempo impiegato dalla foglia dell'elettroscopio a percorrere 1 div. dell'oc. micr.
Scutelli di cariossidi	semplicemente rigonfiati in acqua . . . . .	10'
"	" all'inizio della germinazione . . . . .	10'
"	" dopo 2 giorni di " . . . . .	8'-5"
a	" " 3 " " . . . . .	2'-1',15"
"	" " " " " + HgCl <sub>2</sub> . . . . .	10'
"	" " " " " scaldati a 100° C. . . . .	10'
"	" " " 4 " " . . . . .	8'
Ossido di Uranio (U <sub>3</sub> O <sub>8</sub> )	per cm <sup>2</sup> . (1) . . . . .	0',4"
Fuga spontanea dell'apparecchio	di misura (nell'aria secca) . . . . .	20'
"	" " " (nell'aria umida) . . . . .	10'

(1) La corrente di saturazione prodotta ha l'intensità di 5,78, 10<sup>-12</sup> ampère per cm<sup>2</sup>. Il campione è stato preparato secondo il metodo indicato da Mac Coy e G. C. Ashman (Le Radium, V, 1908, pag. 362).

La lunghezza delle germinazioni al terzo giorno era di 30 mm. in media.

La poltiglia di scutelli resta attiva per 20 o 30 minuti, poi la sua azione ionizzante si attenua sino a scomparire del tutto. Si prolunga anche per un'ora se si ricopre con un foglio di carta la superficie della poltiglia. In alcune esperienze è stato raggiunto un massimo di attività corrispondente alla velocità di scarica di 1 divisione in 50". Paragonando questa attività di ionizzazione degli scutelli a quella dell'ossido di uranio, l'intensità della corrente di saturazione si può ritenere che sia compresa fra  $0,74 \cdot 10^{-15}$  e  $0,17 \cdot 10^{-14}$  ampère per  $\text{cm}^2$ .

Se la poltiglia vien preparata, anzichè coi soli scutelli, anche con tutta la cariosside e la giovane piantina, nessuna azione ionizzante vien rilevata dall'elettroscopio<sup>(1)</sup>. Eguale risultato si ottiene, come è indicato nella tabella, dalla poltiglia di scutelli sottoposta alla temperatura di 100° C. per 20 minuti o da quella a cui sia stato aggiunto del sublimato corrosivo.

I semi di Soja, ridotti in polvere e posti in acqua, cedono rapidamente a questa un'ureasi molto attiva. Le esperienze sono state eseguite con una simile poltiglia di cui l'acqua era stata resa leggermente alcalina con carbonato sodico per neutralizzare la debole acidità del succo cellulare del parenchima cotiledonare.

La curva dell'azione ionizzante in un'ora è indicata dal numero delle divisioni della scala percorse dalla foglia ogni 10 minuti e cioè: 8, 16, 20, 12, 8, 8.

In altre esperienze la velocità di scarica dell'elettroscopio si è conservata costante per un'ora ed è stata di 8 divisioni ogni 10 minuti. Se si paragona questa azione ionizzante a quella dell'ossido di uranio, l'intensità della corrente di saturazione si può calcolare approssimativamente in  $0,44 \cdot 10^{-15}$  ampère per  $\text{cm}^2$ .

La stessa poltiglia, preparata con semi di Soja, ma con aggiunta di bicloruro di mercurio, determina una velocità di scarica che non supera 1 divisione della scala ogni 10 minuti primi.

L'azione ionizzante si trasmette nell'aria del condensatore di misura anche attraverso un cartoncino, ma non attraverso un foglio di stagnola.

Nelle esperienze suesposte era da escludersi assolutamente l'intervento di microrganismi, giacchè la poltiglia veniva preparata rapidamente e posta subito nel condensatore dell'apparecchio. Sono state fatte prove anche in presenza di timolo e sempre con i medesimi risultati.

Riservandomi di discutere i risultati ottenuti non appena saranno compiute ulteriori ricerche ora in corso, desidero porre in evidenza il fatto che

(1) È senza dubbio per una condizione analoga che Lancien e Thomas hanno ottenuto risultati negativi sperimentando con succhi cellulari di piante vive (C. R. Soc. de Biologie, 1909).



la debole azione ionizzante, osservata in queste esperienze, si presenta in corrispondenza della massima attività dell'enzima e può essere interpretata come un effetto secondario di questa stessa attività o di una proprietà della sostanza vivente durante il processo della secrezione enzimatica. Si tratta in ogni caso di una proprietà delle molecole, non degli atomi, giacchè basta l'azione del sublimato o del calore per farla scomparire.

Anche le ceneri dei tessuti seminali adoperati in queste esperienze si sono dimostrate completamente inattive. È dunque una proprietà della sostanza vivente, o di un suo prodotto immediato, che non ha niente a che fare con la radioattività ben nota di alcuni corpi semplici. L'azione ionizzante osservata non può quindi essere attribuita alla presenza nei semi di tracce di sostanze radioattive, come in altri casi è stato verificato<sup>(1)</sup>, ma, sino a prova contraria, può essere interpretata come una manifestazione secondaria di una particolare forma dell'energia vitale.

Biologia. — *Ancora sulla biofotogenesi*. Nota II di SILVIA MORTARA, presentata dal Corrisp. RAFFAELE<sup>(2)</sup>.

In seguito alla critica fatta dal prof. Pierantoni<sup>(3)</sup> ad una mia prima Nota sulla biofotogenesi, credo opportuno ritornare sopra alcuni punti, che forse in quel mio breve resoconto non sono abbastanza chiariti, e possono aver dato luogo a false interpretazioni sul valore delle mie osservazioni.

Ho cercato di dimostrare che non si può ritenere accertata la necessità della simbiosi per la produzione della luce nei *Cefalopodi*, perchè vedevo nelle ultime ricerche sull'argomento una evidente tendenza a generalizzare questa ipotesi; tendenza tale che il lettore non sufficientemente edotto dell'argomento, era ormai tratto a riguardare la simbiosi come la più frequente, se non l'unica causa della biofotogenesi in questo gruppo di animali. Qualunque critica faccia alle mie osservazioni, il prof. Pierantoni dovrà pure riconoscere che in base alle sue ricerche sugli organi luminosi di *Sepiola*, *Rondeletia* e *Carybditeuthis* (*Pyroteuthis*), egli non aveva affermato soltanto che in queste specie vi è una simbiosi fisiologica ed ereditaria di batteri fotogeni negli organi luminosi, ma, estendendo i suoi risultati ai *Cefalopodi* in genere, non aveva esitato a concludere<sup>(4)</sup>: « tutte queste considerazioni « ed osservazioni permettono di considerare tutti gli organi luminosi dei « *Cefalopodi* (in apparenza di forma e costituzione così varia) come appar-

(1) Stoklasa J., *Biochem. Zeitschrift*, Bd. 108, 1920, pag. 109.

(2) Pervenuta all'Accademia il 13 luglio 1922.

(3) in *Rend. Acc. Lincei*, vol. 31, fase. 9<sup>a</sup> [1922].

(4) in *Arch. Zool. Italiano*, vol. IX, pag. 208 [1920].