

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCIII

1896

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME V.

I° SEMESTRE



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1896

per riscaldamento; fa effervescenza con gli acidi, e con nitrato d'argento dà un precipitato giallo, voluminoso che dopo breve tempo annerisce. L'iponitrito d'argento invece, come è noto, è un sale stabile e mantiene a lungo ed anche a caldo il suo colore giallo caratteristico.

Il sale sodico in parola è molto alterabile, e per azione dell'aria si converte in parte nel carbonato.

Io comunico con tutto riserbo questa Nota preliminare, allo scopo di riservarmi lo studio di queste nuove reazioni, nonchè la loro applicazione ad altri eteri degli acidi minerali ed ai derivati ammidati sia minerali come organici.

Fitochimica. — Sopra la fermentazione delle olive e l'ossidazione dell'olio di oliva. Nota di GIULIO TOLOMEI, presentata dal Socio BLASERNA.

Fra le diverse cause che contribuiscono a rendere cattivo l'olio di oliva di molte regioni d'Italia, la principale è senza dubbio la fermentazione delle olive, la quale viene praticata in quei luoghi in cui grande è l'estensione degli oliveti in confronto dei mezzi di raccolta e di manipolazione del frutto, ed in quelli in cui è radicata la credenza che colla fermentazione le olive diano una quantità d'olio superiore a quella che darebbero se fossero molite fresche.

Secondo taluni agronomi, con la fermentazione delle olive la resa si aumenta realmente, sebbene di poco, mentre si ottiene olio di pessima qualità; ma ormai è dimostrato da numerose esperienze che anche la resa diminuisce; e che debba essere così lo provano i fenomeni chimici che si producono durante la fermentazione, fenomeni poco o nulla conosciuti, dei quali mi propongo di parlare in questa Nota.

Per far fermentare le olive si ricorre nelle varie parti d'Italia a diversi metodi, i quali tutti, per altro, hanno per iscopo di tenerle bene in contatto le une con le altre, senza impedire totalmente l'accesso dell'aria negli interstizi rimasti fra esse, ossia di fare in modo che non vada disperso il calore che si sviluppa per certe azioni chimiche a cui va soggetto il loro contenuto. Così in Basilicata si rinchiudono, ben pigiate, in grandi sacchi entro i quali si lasciano fino al momento di frangerle; nella Maremma toscana si ammucchiano sul pavimento delle stanze, ed in Calabria si conservano entro vasche in muratura di diverse capacità, dette *zimbuni*, ed a più riprese si pigiano con un mazzapicchio, il quale non batte direttamente sulle olive, ma sopra bruscole fatte, in generale, di fettucce di castagno. In queste condizioni sono conservate perfino dei mesi, e durante questo tempo

si sviluppa in essa la fermentazione accompagnata da un notevole innalzamento di temperatura.

Le olive in fermentazione si presentano alla superficie dei sacchi, dei mucchi o delle vasche, intere, avvizzite e lucenti e non hanno alcun odore disgustoso pronunziato. Ma a misura che si scende nella massa si trovano contuse ed ammaccate sempre più, ed alla profondità di circa 50 cm. sono aderenti le une alle altre, hanno la polpa schiacciata, e formano una massa, più o meno pastosa, da cui emana un odore acuto, disgustoso che è proprio dell'olio d'oliva fabbricato nelle regioni sopra indicate.

Introducendo un termometro nella massa delle olive a diverse profondità si riscontra che fino a circa 10 cm. al disotto della superficie la temperatura è presso a poco quella dell'ambiente, ma al disotto va aumentando fino a circa 50 cm., dove si ha un massimo, per poi tornare a diminuire fino al fondo della vasca o della stanza in cui sono ammucchiate le olive. Di più nei primi giorni la temperatura cresce con una certa rapidità, ma poi va a mano a mano diminuendo quando la massa delle olive è abbandonata a sé.

In certi luoghi, quando non è possibile procedere subito alla molitura delle olive, appena si avverte il forte innalzamento di temperatura, si torna a battere ben bene la massa che cede facilmente essendosi nella fermentazione rammollita la polpa. In tal modo la fermentazione è disturbata e la temperatura si abbassa; ma in capo a qualche giorno torna ad innalzarsi lentamente.

La massima differenza trovata fra la temperatura delle olive e quella dell'ambiente non oltrepassa, almeno per quanto ho potuto riscontrare in tutte le determinazioni fatte fin qui, i 20° centigradi, e si ha ad una profondità di 35 a 50 cm.; al disotto è molto minore. Questo fatto ha grande importanza per la spiegazione che io do del fenomeno in questione.

Data la temperatura esterna che si ha in generale all'epoca della raccolta delle olive, la massima temperatura a cui sono portate quest'ultime durante la fermentazione oscilla fra i 35 ed i 40°.

L'olio ottenuto dalle olive fermentate conserva l'odore sgradevole di queste; ha un sapore bruciante, attacca la gola e riscaldato emana un odore molto disgustoso. Esso contiene inoltre una quantità di acido oleico che è circa quattro volte e mezzo quella contenuta nell'olio ottenuto dalle olive fresche, e col tempo, specialmente se lasciato in contatto dell'aria ed in ambienti dove la temperatura è piuttosto elevata, si altera profondamente.

Ciò posto ecco quali sono i fatti che permettono di dare una spiegazione dei fenomeni sopra esposti.

*
* *

Nella polpa delle olive mature è contenuto un fermento solubile ossidante, o enzima, la cui presenza può essere svelata per mezzo delle reazioni

caratteristiche che questi fermenti danno con la tintura di resina di guaiaco, con l'idrochinone e col pirogallolo. La prima reazione specialmente, che consiste nella produzione di una bella colorazione azzurra della tintura di resina di guaiaco in contatto della polpa delle olive mature, può essere verificata con grande facilità.

Riducendo in poltiglia la polpa delle olive, ponendola a macerare per qualche ora in una certa quantità d'acqua e filtrando, si ottiene un liquido di colore rosso-violaceo, che col tempo s'imbruna, il quale ha proprietà ossidanti molto energiche, dando una colorazione azzurra molto intensa con la tintura di resina di guaiaco, dei cristalli di porporogallina con l'acido pirogallico, del chinone e del chinidrone con l'idrochinone, ed infine una colorazione bruno-cupa con l'acido gallico. Se la polpa delle olive od il liquido ottenuto nel modo anzidetto sono stati scaldati per pochi minuti ad una temperatura di circa 75°, non si ha più nessuna di queste reazioni.

Questi fatti dimostrano che esiste nella polpa delle olive mature un fermento solubile ossidante la cui presenza, intraveduta dietro le osservazioni fatte sopra la fermentazione delle olive ed i fenomeni che l'accompagnano, non era ancora stata constatata per mezzo di reazioni che ne mettessero fuori di dubbio l'esistenza.

Per preparare una certa quantità dell'enzima in questione si estrae dalla polpa delle olive il succo che contiene, si tratta con alcool assoluto, si decanta il liquido soprastante ed il precipitato è ripreso con acqua distillata. Si filtra, ed il filtrato si raccoglie in circa cinque volte il suo volume di alcool assoluto, e si ottiene così un nuovo precipitato nel quale è contenuto l'enzima che si rivela con le reazioni sopra ricordate.

È a questo enzima ossidante che si deve la fermentazione delle olive, come lo provano i fatti seguenti.

Preso una certa quantità di olive raccolte in uno stesso giorno, le divisi in due parti eguali; una porzione la scaldai per circa tre quarti d'ora in una stufa a 75° e l'altra no; poi, non potendo lasciarle fermentare spontaneamente perchè in troppo piccola quantità, le misi in due cassette di legno che posi in una incubatrice, la cui temperatura fu mantenuta per otto giorni a 38°. In capo a due giorni la temperatura delle olive non scaldate era salita di 4° e dopo sei giorni di 7°,5 al disopra di quella dell'incubatrice, mentre non aveva variato affatto quella delle olive prima scaldate. Inoltre le prime presentavano l'aspetto ed avevano il puzzo speciale delle olive fermentate, mentre le altre furono tolte dalla cassetta nelle stesse condizioni in cui vi erano state poste. Da una metà di ciascuna porzione di olive fu estratto l'olio, e determinata in esso la quantità di acido oleico fu trovato che, mentre nelle olive scaldate a 75° la proporzione era di 0,978 per cento, nelle olive che avevano fermentato era di 3,265 per cento. Di più l'olio ottenuto da queste ultime aveva il sapore piccante e l'odore sgra-

devole di quello prodotto nelle regioni in cui ancora oggidì è in uso la fermentazione delle olive.

Della metà delle olive scaldate rimaste furono fatte due parti, delle quali una fu lasciata inalterata, mentre le olive dell'altra furono ammaccate in modo da romperne in parte la buccia e vi fu versata sopra dell'acqua contenente l'enzima ossidante ricavato da altre olive mature, rimestando ben bene la massa perchè tutte le olive venissero bagnate dal liquido, col quale furono lasciate in contatto per circa due ore. Poi, fattele asciugare quasi completamente, furono poste in una cassetta di legno, che, insieme all'altra contenente il resto delle olive scaldate, fu messa di nuovo nell'incubatrice, dove fu mantenuta per otto giorni alla temperatura di 38°. Le olive così trattate subirono tutte le modificazioni che si producono in quelle che fermentano naturalmente, mentre le olive dell'altra porzione rimasero inalterate. Nessun dubbio quindi che i fenomeni che si producono nella fermentazione delle olive non siano dovuti all'enzima ossidante contenuta nella loro polpa.

Si potrebbe domandare perchè le olive fermentano solo quando sono ammassate o pigiate dentro vasche o sacchi, mentre il fenomeno non si produce se le olive sono distese sopra graticci o sul pavimento delle stanze in istrati di piccolo spessore. La risposta è facile a darsi. Il fermento ossidante a cui io attribuisco il fenomeno della fermentazione delle olive, agisce molto lentamente alla temperatura che si ha d'ordinario all'epoca della raccolta delle olive, mentre la sua azione è molto energica, come quella di tutti gli enzimi, alle temperature comprese fra i 35° e i 60°, e per conseguenza quando le olive sono poste in locali aperti, bene aereati e non ammassate in istrati molto profondi, l'ossidazione prodotta dall'enzima non può dare origine ad uno sviluppo di calore sufficiente per portare la temperatura della polpa a quel grado a cui l'enzima produce il massimo effetto. Invece, quando le olive sono ammassate, l'ossidazione a cui dà luogo l'enzima, lenta in principio, va a mano a mano esaltandosi per il calore stesso da essa sviluppato e che non può disperdersi. È tanto vero questo, che nelle vasche in cui si conservano le olive la temperatura, che alla superficie non differisce da quella dell'ambiente, aumenta con la profondità e col crescere di essa, diviene maggiore il grado di alterazione della polpa, che raggiunge il suo massimo negli strati dove massima è la temperatura.

Si potrebbe domandare perchè nelle vasche l'aumento della temperatura, e quindi l'alterazione delle olive, si verifica fino ad una certa profondità oltre la quale la differenza con la temperatura dell'ambiente va diminuendo fino a divenire trascurabile sul fondo se le vasche sono abbastanza profonde. La risposta è facile, quando si pensi che l'enzima che si trova nelle olive mature ossida la sostanza grassa della polpa prendendo l'ossigeno dall'aria e quindi fino ad una certa profondità tale ossidazione può compiersi, l'ossigeno che penetra fra gli interstizi delle olive essendo in quantità sufficiente, ma

oltre un certo limite no, perchè o l'ossigeno non arriva o arriva in quantità troppo piccola.

Questo modo di vedere è confermato dal fatto che quando le olive devono essere mantenute entro le vasche per un tempo troppo lungo prima di essere sottoposte alla frangitura, sono pigiate nuovamente quando hanno cominciato a fermentare. In tal modo la fermentazione viene disturbata e la temperatura si abbassa notevolmente, ma poi torna a salire, sebbene con maggiore lentezza della prima volta. Ciò avviene perchè con la seconda pigiatura, essendo la polpa delle olive rammollita e quindi cedendo facilmente alla pressione, vien cacciata la maggior parte dell'aria che si trova negli interstizi rimasti fra le olive, ed è necessario un certo tempo perchè l'aria che rimane e nella quale l'ossigeno non è più contenuto che in piccola quantità, possa essere rinnovata per diffusione. Questo tempo è maggiore di quello necessario affinchè si produca la prima fermentazione, e la temperatura sale molto più lentamente perchè dopo la seconda pigiatura sono ridotti ad un volume molto più piccolo gli interstizi rimasti fra le olive.

Aggiungerò che lasciando le olive nelle vasche per lungo tempo (in certi luoghi perfino tre mesi) l'alterazione di cui è parola si propaga in tutta la massa fino negli strati più profondi, e si capisce che deve essere così, se si riflette che le modificazioni prodotte dagli enzimi non sono mai complete, ma si arrestano quando una certa quantità della materia sulla quale producono la loro azione è trasformata. Per tale ragione, quando in uno strato situato ad una certa profondità si è raggiunto tale limite nell'alterazione della polpa, l'azione dell'enzima cessa e allora l'ossigeno, non rimanendo più fissato dalle olive poste in quello strato, può arrivare a mano a mano a strati più profondi e compiere per mezzo dell'enzima l'ossidazione della sostanza grassa delle olive poste a profondità sempre maggiori.

Se l'azione dell'enzima sulla sostanza grassa delle olive si manifesta in modo così energico solo quando le olive sono ammassate, perchè allora non va disperso il calore che si produce nell'ossidazione, non bisogna credere che sia nulla quando le olive sono poste in istrati sottili ed in locali bene aereati, giacchè anche in queste condizioni, sebbene più debolmente, l'enzima produce il suo effetto dando luogo allo sviluppo di anidride carbonica ed alla formazione di acido oleico, come può facilmente verificarsi determinando la quantità di quest'acido nell'olio ottenuto dalle olive frante appena colte ed in quello dato dalle olive lasciate in riposo sui graticci per qualche tempo. Aggiungerò anzi a tale proposito che in tutte le regioni d'Italia in cui si fa l'olio senza far prima fermentare le olive, si lascia sempre il frutto qualche giorno sui graticci o steso sul pavimento di apposite camere prima di frangerlo, perchè si ritiene che in tal modo l'olio riesca migliore. Forse è per dar modo all'enzima ossidante di dar luogo alla formazione della piccola quantità di acido oleico che si rinviene nell'olio d'oliva

che si procede in tal modo, perchè, molto probabilmente, l'olio privo affatto di acidi liberi, non sarebbe così apprezzato come quello che ne contiene una quantità che non oltrepassi certi limiti.

Le trasformazioni chimiche che si producono nella polpa delle olive assoggettate alla fermentazione sono molto complesse, essendo di natura molto differente le sostanze che costituiscono la polpa stessa; quello che è certo, e che si può constatare facilmente, è che il fenomeno è accompagnato dalla formazione di anidride carbonica, acido oleico, acido acetico e acido sebacico. Si generano inoltre, in piccola quantità, altri acidi grassi volatili superiori, i quali danno alle olive fermentate l'odore caratteristico che presentano. Aggiungerò che le proporzioni di questi acidi sono molto differenti a seconda della durata della fermentazione, ciò che porterebbe o ad ammettere l'esistenza di diversi enzimi che produrrebbero ciascuno una modificazione speciale ad una determinata temperatura, o a supporre che lo stesso enzima fosse capace di produrre modificazioni differenti a misura che è modificata la natura della sostanza sulla quale agisce. La questione non si può risolvere tanto facilmente; ma sta il fatto che mentre nelle olive che sono alla superficie delle vasche non si ha, anche dopo parecchi giorni, che la formazione di acido oleico con sviluppo di anidride carbonica, in quelle situate ad una certa profondità si riscontra la presenza degli altri acidi sopra ricordati. Se poi si fanno dei saggi sopra le olive poste ad una stessa profondità, a mano a mano che procede la fermentazione, si trova che mentre va dapprima crescendo abbastanza rapidamente la proporzione di acido oleico, si arriva ad un punto in cui la produzione di questo corpo si riduce quasi a zero, mentre ha luogo con una certa energia quella degli altri acidi. Anche l'apparizione di questi avviene successivamente, ma data la loro piccola quantità non mi è stato possibile determinare l'ordine che seguono nel formarsi. Quello che si può affermare è che per ciascuno di essi si ha una quantità limite, raggiunta la quale la sua produzione cessa. Sarebbe interessante determinare con esattezza tale quantità per ciascuno dei composti che si formano, ma la cosa non è troppo facile.

Le trasformazioni descritte non devono essere confuse con quelle prodotte dall'enzima scoperto dal Green nei semi oleosi, al quale fu dato il nome di *saponasi*, che ha per effetto di trasformare l'oleina in acido oleico e glicerina in presenza dell'acqua, fuori del contatto dell'aria. L'enzima che si trova nella polpa delle olive è invece un vero e proprio fermento ossidante, il quale per agire ha bisogno dell'ossigeno. Per tale ragione la fermentazione non si produce se le olive sono poste entro recipienti contenenti azoto o anidride carbonica, anche se la loro temperatura è fatta salire a quel grado a cui l'enzima agisce con la massima energia.

Il nome più appropriato per tale enzima mi pare che sarebbe quello di *oleasi*.

* * *

L'oleasi si trova nell'olio d'oliva, specialmente in quello non chiarificato, ed è la causa delle alterazioni a cui l'olio stesso va soggetto coll'andar del tempo.

Come è noto, l'olio d'oliva esposto all'azione dell'ossigeno e conservato in ambienti a temperatura piuttosto elevata, acquista un sapore acro, piccante e un cattivo odore che lo rendono inadatto all'alimentazione. Inoltre si decolora rapidamente, dando luogo ad un abbondante deposito di materia colorante. Tali fenomeni si producono tanto più rapidamente quanto maggiore è la quantità di sostanze mucillagginose e parenchimatose rimaste nell'olio.

Alcuni fatti conosciuti, ma non ancora spiegati, dimostrano che le modificazioni sopra citate sono dovute all'azione di un enzima ossidante. Così, per esempio, si è osservato che l'olio estratto dalle olive acerbe si conserva più a lungo di quello ottenuto dalle olive perfettamente mature. E si capisce che deve essere così se si riflette che mentre nelle olive acerbe non si riscontra affatto la presenza dell'oleasi, se ne trova invece una quantità rilevante in quelle mature. Anche lo scoloramento, che è abbastanza rapido nell'olio ottenuto dalle olive mature, avviene invece molto lentamente nell'olio ricavato dalle olive acerbe, ciò che dimostra che l'oleasi esercita un'azione sulla precipitazione delle materie coloranti dell'olio.

Che l'oleasi sia contenuto nell'olio d'oliva lo dimostrano i fatti seguenti. Agitando un olio non chiarificato con un poco di acqua e lasciandolo poi riposare, si rinviene in questa, in quantità più o meno grande a seconda delle condizioni dell'olio trattato, dell'oleasi la cui presenza è svelata dalle reazioni sopra indicate. Se si ripete l'operazione parecchie volte, l'enzima può essere portato via quasi completamente, ma in tal modo l'olio rimane molto alterato perchè col rimescolamento della massa e con la sua divisione si favorisce il contatto con l'ossigeno e quindi l'ossidazione. Operando invece con acqua priva affatto d'aria e dentro bottiglie in cui sia impedito l'accesso dell'ossigeno, l'olio si libera quasi totalmente dall'enzima che contiene senza alterarsi affatto e si conserva per lungo tempo senza subire alcuna modificazione. Così pure si conserva inalterato se si riscalda per pochi minuti ad una temperatura compresa fra i 70° e i 75°; ma questo metodo non sarebbe consigliabile in pratica, perchè l'olio scaldato acquista un sapore che lo fa diminuire notevolmente di prezzo.

Di più se all'olio scaldato, o a quello privato del fermento solubile nel modo indicato sopra, si unisce una certa quantità d'acqua contenente disciolto l'oleasi ricavato dalle olive mature e si agita, l'alterazione si produce di nuovo.

Sulla rapidità dell'alterazione dell'olio ha inoltre una grande influenza la luce, la quale favorisce notevolmente l'azione dell'oleasi. Difatti, esponendo alla luce, in recipienti aperti per facilitare l'accesso dell'ossigeno, dell'olio

contenente dell'oleasi, l'ossidazione si produce in pochissimo tempo e l'olio invecchia rapidamente, presentando in breve i caratteri che non avrebbe acquistato altro che in capo a qualche anno. Ma se l'olio è stato privato affatto dell'enzima o l'ossigeno non può penetrare, neppure in piccola quantità, nell'interno dei recipienti, la luce non ha sopra di esso nessuna azione. Aggiungerò che le alterazioni che subisce l'olio esposto all'azione della luce sono accompagnate da una decolorazione molto rapida che lo rende in poco tempo quasi perfettamente bianco. Se invece l'olio è stato privato dell'oleasi, si può tenere quanto si vuole esposto all'azione della luce senza che il suo colore si alteri minimamente. Ma se si aggiunge l'enzima la decolorazione incomincia.

Le trasformazioni chimiche che si producono nell'olio d'oliva col tempo, sono della stessa natura di quelle che hanno luogo nella sostanza grassa che si trova nella polpa delle olive, cioè si ha sviluppo di anidride carbonica accompagnato dalla produzione di acido oleico, acido acetico, acido sebaceo e altri acidi grassi superiori. Questi ultimi per altro sono sempre in quantità minima e qualche volta non si formano affatto.

Fisiologia. — *Fotografie del sistema arterioso ottenute coi raggi Röntgen.* Nota del dott. UBERTO DUTTO, presentata dal Socio BLASERNA.

L'esperienza ha oramai dimostrato che le ossa sono relativamente opache ai raggi di Röntgen.

Ciò è dovuto alla composizione chimica delle lamelle fondamentali ossee, costituite prevalentemente da sali di calcio (fosfato, carbonato, fluoruro di calcio).

Così è stato da altri osservato il grado di opacità di parecchi cristalli di sali di calcio, fra i quali lo spato di Islanda.

Restava a vedersi se un sale di calcio, introdotto nei tessuti, anche allo stato polverulento, avrebbe permesso di fotografare l'ombra.

Questo fu fatto all'Istituto Fisico romano nel modo seguente:

Fu iniettato per l'arteria brachiale di un cadavere un impasto liquido di solfato di calcio (scagliola) abbastanza tenue, affinché potesse penetrare anche nei piccoli vasi.

Avvenuto l'indurimento, si fotografò la mano, nella posizione oramai classica, cioè colla palma rivolta verso la lastra fotografica, avendo cura di tener il tubo di Crookes a distanza grande, per avere l'ombra nettamente accentuata.