

durch eine Atomgruppierung fixierte Struktur durch das ganze Molekül fort. Zum Beispiel würde eine geringe Änderung des Tetraederwinkels des mittleren C-Atoms der Kette oder eine von der normalen Paraffinkette abweichende Konfiguration der mittleren C-Atome des Moleküls bewirken, daß die Richtungen der beiden langen Kettenenden einen Winkel $\neq 180^\circ$ bilden, oder daß die wirksame Kettenlänge verkürzt würde usw. Damit wäre eine Änderung der Volumbeanspruchung und der Viskosität verbunden. Die beiden Substanzen haben fixierte Strukturen mit verschiedener Volumbeanspruchung. STAUDINGER prägte für dieses Verhalten den geeigneten Ausdruck: «Formbeständigkeit der Moleküle»¹. Wir können obige Messungen nicht mit einer Verknüpfung, wohl aber mit einer Formbeständigkeit der Moleküle erklären.

E. Die Form der Kettenmoleküle

Die Form der Kettenmoleküle in Lösung ist durch den Valenzwinkel und das Fehlen einer Drehbarkeit der C-C-Bindung (mit Ausnahme der äußersten Ketenglieder) bedingt. Die Mikro-BROWNSchen Bewegungen der Kette und die BROWNSche Bewegung des Lösungsmittels führen zu elastischen Deformationen der Ausgangsform, mit denen eine geringe Änderung der Valenzwinkelnormalstellung und der Rotationsnormalstellung verbunden ist. Auf jede deformierte Form wirkt eine rücktreibende Kraft, die den Zustand minimaler potentieller Energie herzustellen sucht. Die häufigste Form wird etwas abweichen von der Normalform, die das Molekül im festen Zustand besitzt. Substanzen, bei denen im festen Zustand die gerade Kette nachgewiesen ist (zum Beispiel durch Röntgenaufnahmen) haben auch in Lösung eine bevorzugt ge-

¹ STAUDINGER, Kunststoffe 33, 197 (1943).

streckte Form. Zu diesen Substanzen gehören zum Beispiel Zellulose und einige andere Polysaccharide, Paraffine, Polyoxymethylene, Polyäthylenoxyde, Polyamide und Polyester.

Bei anderen Substanzen ist eine Bestimmung der Form noch nicht möglich, zum Beispiel beim Kautschuk und einigen Kunststoffen. Es ist wahrscheinlich mit einer Variation von Formen zu rechnen. Wie die Gestalt in diesen Fällen auch sein mag, auf jeden Fall ist das Molekül ohne Einwirkung äußerer Kräfte innerhalb einer durch den Elastizitätsmodul und den Torsionsmodul der Kettenteile festgelegten Variationsbreite formbeständig.

Summary

1. The most important opinions concerning the shape of linear chain-molecules are quoted.

2. From the existence of an energy of rotation, which was proved on gaseous ethan, and from the presence of distinct positions of lowest potential energy of the C-atoms follows, if the above facts are applied to dissolved long chain-molecules, that the C-C bond in long chains shows no rotation.

3. The quantitative results of the ringforming reactions with long paraffin-chains, which have a very distinct minimum yield, if the chain has 9–12 C-atoms, are contradictory to the general hypothesis of free rotation.

4. Measurements of viscosity with model substances are not in agreement with the idea of free rotation, which leads to statistic balls, but point to the "stability of shape of the molecules" (STAUDINGER).

5. The chain-molecules tend to take the position of lowest potential energy. The amplitudes of the vibration in deviation of the normal position are given by the heat energy as well as by the moduli of elasticity and torsion of the chain. Quite a number of substances have the fully extended chain as stable shape. Other substances probably have no extended chains but angular chains as stable forms.

Il Potenziale di Ossido-Riduzione e le sue applicazioni in Batteriologia ed in Igiene

Di ANTONIO TIZZANO, Roma

I. Premessa e brevi cenni teorici

Dagli albori della chimica, si sono considerati corpi più o meno facili ad ossidarsi o a ridursi. Certamente, la maniera di esprimersi cambiava, ma lo spirito tendeva verso una concezione unica. L'alchimista considerava già gli elementi capaci di dare il fuoco e quelli che erano inerti. Poi si distinsero le velocità di reazione e da allora si cercò di esprimere in cifre la forza di ossidazione o di riduzione. I corpi semplici furono così classificati per ordine di affinità chimica.

La definizione di energia di ossido-riduzione lascia da parte il punto di vista così considerato di velocità di

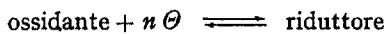
reazione per riportarsi sul problema più razionale dell'equilibrio chimico.

Da VAN 'T HOFF, quando una reazione chimica è legata ad un trasporto di elettroni, da una molecola all'altra, ed è possibile deviare questi elettroni con un conduttore metallico, si può valutare l'energia chimica della reazione con la forza elettromotrice delle correnti di elettroni nella pila formata, funzionante in maniera reversibile. L'esistenza di una forza antagonista compensante la forza chimica sarà indispensabile alla misura di questa e l'energia di ossidazione sarà misurata da questa forza di compensazione.

Così, in una pila formata di due recipienti contenenti soluzioni miste di cloruri ferrosi e ferrici, in concentrazioni differenti, con contatti mediante fili di platino, si ottiene una forza elettromotrice, E , che dipende dal valore relativo dei due elettrodi e misura la differenza dei poteri ossidanti delle due soluzioni. Dalla formula di NERNST, si ha:

$$E_H = E' - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Fe}^{++}]}{[\text{Fe}^{+++}]}$$

in cui E_H è il potenziale dell'elettrodo inattaccabile rapportato all'elettrodo normale ad idrogeno, E' il potenziale normale della reazione $\text{Fe}^{++} - \Theta \rightleftharpoons \text{Fe}^{+++}$, R la costante dei gas, F la costante di FARADAY (962500 C), T la temperatura assoluta, n il numero degli elettroni (nel nostro caso 1). Generalizzando, si ha:



$$E_H = E' - \frac{RT}{nF} \ln \frac{\text{red}}{\text{ox}}$$

Un elettrodo inattaccabile in oro o in platino luccente è paragonabile ad un elettrodo ad idrogeno immerso in una soluzione di concentrazione normale in H ioni e sormontata da una atmosfera di idrogeno di pressione P .

Per conseguenza, ad ogni equilibrio di ossido-riduzione in mezzo acquoso diluito, si può far corrispondere un equilibrio tra gli H ioni e l'idrogeno gassoso.

Come è noto, CLARK¹ ha raccolto tutti questi risultati e per analogia con la nozione del p_H ha introdotto la notazione di r_H che esprime l'attività riduttrice o ossidante di una soluzione diluita, come il p_H esprime l'attività acida o alcalina di questa stessa soluzione.

Il campo di applicazione della determinazione del potenziale di ossido-riduzione, rispettivamente del valore r_H è oggi già molto grande: le vantaggiose possibilità della sua applicazione specialmente in biologia, nello studio delle fermentazioni, nella chimica degli enzimi, in quella delle vitamine ed in quella bromatologica, ecc., però, non si possono oggi ancora scorgere nella loro completa estensione e si può facilmente prevedere che queste possibilità debbono essere sempre più sfruttate, per servire anzitutto al progresso scientifico, ma poi anche, immediatamente, al progresso tecnico.

I potenziali di ossido-riduzione sono stati prima studiati, già alla fine del secolo scorso, nel Laboratorio di OSTWALD, in principio ci si occupava dei sistemi organici, ma già nel 1904 HABER e REUSS hanno studiato il sistema idrochinone \rightleftharpoons chinone, ricerche che dopo la prima guerra mondiale furono proseguite da GRAUER, GILLEPSIE, CLARK, BILMANN e CONANT. Da questa epoca non si è più interrotta la serie dei lavori che si occupano del potenziale di ossido-riduzione, del valore r_H e delle loro applicazioni nei più diversi campi.

¹ CLARK, W. MANSFIELD, Studies on oxydation-reduction, Bulletin 151, Hygienic Labor., Treasury Department, U.S. Publ. Health Service, Washington, D. C. (1928).

Poichè non è però possibile, nei limiti di questa rassegna, dare uno sguardo completo ai lavori già pubblicati, rimando alla bibliografia riassuntiva riportata: qui mi limiterò a ricordare i fatti principali che varranno a dare una idea della massa delle possibilità.

II. Applicazioni del potenziale di ossido-riduzione

1.º Batteriologia

Da quanto precede, si è visto come si sia introdotta nelle scienze biologiche una nuova idea sui fenomeni di riduzione e di ossidazione, e, cioè, sui fenomeni fondamentali del metabolismo di ogni essere vivente. Interessa qui particolarmente vedere se queste conoscenze si rifletteranno sui fondamenti della Batteriologia e della Chimica bromatologica e quali frutti si potranno trarre da questo ramo della scienza. La batteriologia poggerebbe sopra una base troppo debole, se una nuova interpretazione di qualche fenomeno già conosciuto potesse restare senza valore per le sue leggi già stabilite. Nella stessa maniera in cui l'interpretazione elettrochimica della reazione non svaluta le leggi di titolazione, ma rende possibile conoscerle più profondamente ed esattamente, l'interpretazione elettrochimica delle riduzioni e delle ossidazioni non modifica le leggi del metabolismo batterico, ma apre un nuovo orizzonte attraverso il quale si potranno allargare e rendere più esatte le nostre conoscenze. Si vedranno i vantaggi dello studio dei sistemi ossido-riduttivi batterici, per il fatto soprattutto che consentono di eseguire le nostre ricerche nei batteri vivi.

Sul metabolismo batterico per molto tempo, specialmente durante l'epoca che può essere considerata come il periodo aureo della batteriologia, si sono potute realizzare ricerche indirette, analizzando le variazioni prodotti nei mezzi di coltura. Il metodo di WARBURG rese possibile per la prima volta di studiare direttamente i fenomeni del metabolismo batterico, ma la sua applicabilità — visto che esso permette solo di misurare l' O_2 prodotto — si limita ad un campo molto ristretto. La determinazione del potenziale di ossido-riduzione si può eseguire sia nei batteri anaerobi che negli aerobi e sempre nelle condizioni desiderate. Dato che il metabolismo batterico è, generalmente, una proprietà ben caratteristica, dalla sua determinazione si possono trarre importanti conclusioni per quanto si riferisce non solo al metabolismo intermedio, ma anche alla specie, alla purezza di una coltura, e, oltre a ciò, si possono determinare con grande esattezza le condizioni più favorevoli o più sfavorevoli del suo accrescimento e della sua proliferazione. Argomento, questo, che potrà raggiungere anche una certa importanza nella lotta contro le malattie infettive.

GILLEPSIE e collaboratori^{1, 2, 3} nello studio dei po-

¹ R. W. H. GILLEPSIE e J. R. PORTER, J. Bacter. 36, 605 (1938).

² R. W. H. GILLEPSIE e L. F. RETTGER, ib. 36, 621 (1938).

³ id., ib. 36, 633 (1938).

tenziali di ossido-riduzione prodotti da diversi batteri in mezzi di coltura sufficientemente tamponati ed in condizioni anaerobie, hanno trovato che il valore finale, cioè il valore che non varia più, è caratteristico per le specie e può essere differente in specie assai prossime. Essi hanno trovato differenze tanto minime e tanto costanti da giungere al punto da poter essere utilizzate ai fini della classificazione e della identificazione. Il potenziale finale si raggiungeva in 2-3 giorni ed era di -0,30 V nel caso del *Clostridium botulinum* e di -0,35 V per il *Clostridium tetani*. Differenze identiche sono state trovate in una stessa specie secondo l'origine. Per esempio, le diverse specie dei lattobacilli (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, ecc.) mostravano una differenza nel potenziale di ossido-riduzione di -0,10-0,11 V secondo l'origine orale od intestinale, essendo l'intensità di riduzione maggiore nei primi. Il *Lactobacillus macerans* riduce molto più fortemente di quel che non riduca lo *A. polymyxa* e la differenza tra i valori finali di queste due specie è di 0,06-0,07 V.

Altre curve sono state tracciate per il potenziale di ossido-riduzione di diversi altri germi e, particolarmente, degli streptococchi, dei pneumococchi, dello stafilococco, del bacillo difterico (KNIGHT e FILDES¹; HEWITT²). Tutti mostrano un netto optimum di attività che, per la maggior parte, corrisponde ad un potenziale inferiore ad $E_H = +0,10$ V per $p_H = 7 - 7,65$. Al disopra di +0,11 V lo sviluppo è generalmente impedito per inibizione delle spore.

Dall'origine del potenziale di ossido-riduzione segue che in quei casi in cui il metabolismo della specie è perfettamente eguale, anche i rispettivi valori di E_H non possono presentare differenze. Attraverso ricerche biochimiche si è visto, per esempio, un comportamento quasi identico della *S. paratyphi C* e della *S. cholerae suis*, var. Kunzendorf, ed un comportamento differente di queste due dalla *S. sendai*. Le determinazioni del potenziale di ossido-riduzione hanno confermato rispettivamente questa identità e questa divergenza (BURROWS e JORDAN³).

Poichè il potenziale ossido-riduzione varia con il p_H , è naturale che la formazione di prodotti del metabolismo che esercitano una influenza sul p_H farà risentire la sua azione anche sul valore di r_H . Ma questa influenza dei prodotti metabolici altera le curve del potenziale di ossido-riduzione anche quando si mantiene artificialmente il p_H ad un livello costante. LONGSWORTH e McINNES⁴ in una serie di esperimenti hanno studiato la produzione di acido in colture di acidofilo e le curve di potenziale di ossido-riduzione in una atmosfera di N_2 contenente il 2,6% di CO_2 . La reazione del mezzo fu mantenuta — per regolazione automatica

— ad un livello costante, corrispondente ad un p_H 6,0. L'inizio dello sviluppo fu accompagnato da una caduta rapida del potenziale di ossido-riduzione, il cui valore minimo era di -0,19 V. Con la produzione di acidi aumenta anche il potenziale. Nella fase massima della produzione di acido il potenziale di ossido-riduzione era di -0,15 V. Diminuendo la formazione di acido, diminuisce il valore del potenziale di ossido-riduzione. Cento ore dopo l'inizio dell'esperimento l' E_H torna di nuovo a -0,19 V, valore caratteristico per questo microorganismo in condizioni anaerobie e con un p_H di 6,0; successivamente il valore di E_H resta invariato.

Le seguenti ricerche di SEAL e MITRA¹, tra le altre, mostrano quali differenze minime possa svelare il potenziale di ossido-riduzione. Questi autori determinavano il potenziale di ossido-riduzione in colture di differenti vibroni, usando come mezzo colturale acqua peptonata all'1%. Le curve del potenziale dei gruppi di composizione chimica differente erano eguali e differivano da quelle dei gruppi di composizione chimica differente. Colture di vibroni con proteina I hanno un potenziale maggiore di quello che mostrano le colture con proteina II. Ma il tipo della curva era in entrambi i casi lo stesso, cioè il minimo era raggiunto in 6 ore ed il massimo in 12 ore.

Un'altra questione la cui spiegazione può essere data dallo studio preciso del potenziale di ossido-riduzione è quella dell'età di una coltura. Tra le varie ricerche compiute in questo campo ricorderò quelle di CALCINALI² che mostrano che il bacillo di Koch col tempo perde molto della sua capacità riducente. Una coltura di 15 giorni ha una azione riducente 4-5 volte più forte di una di 3-4 mesi. I particolari di queste ricerche mostrano che la diminuzione delle proprietà ossido-riduttive è in relazione diretta con l'età delle colture studiate.

Interessanti risultati sono dati dalle misure eseguite nelle stesse specie coltivate in mezzi differenti. Seguendo, per esempio, le curve di potenziale d'una coltura di streptococco emolitico in condizioni aerobie in brodo semplice si vede che il valore di E_H passa rapidamente dal suo valore iniziale, -0,30 V a -0,16 V, raggiungendo questo valore in 6-6½ ore, per giungere poi lentamente al valore finale di -0,12 V. La stessa coltura coltivata in brodo contenente il 50% di siero ha come valore finale del suo E_H -0,09 V e la caduta del suo potenziale si verifica molto lentamente, per esempio, dopo 6-6½ ore esso è ancora di -0,08 V. Questa modificazione del potenziale e della sua curva è determinata probabilmente dai gruppi sulfidrilici contenuti nelle proteine naturali del siero. È noto che il glutathione, il composto biologico più importante che contiene il gruppo sulfidrilico, è stato accuratamente studiato dal punto di vista del suo potenziale di ossido-

¹ B. C. J. KNIGHT e P. FILDES, Biochem. J. 24, 1496 (1930).

² L. F. HEWITT, ibid. 24, 1151 (1930).

³ W. BURROWS e E. O. JORDAN, J. Infect. Dis. 58, 259 (1938).

⁴ L. G. LONGSWORTH e D. A. MCINNES, J. Bacter. 32, 536 (1936).

¹ S. C. SEAL e B. N. MITRA, Ind. J. med. Res. 26, 625 (1939).

² M. CALCINALI, Boll. Ist. Sieroter. Mil. 17, 845 (1938).

riduzione. Queste ricerche hanno fatto supporre che il gruppo sulfidrilico sia un trasportatore di ossigeno, in modo che è ben comprensibile la sua influenza preponderante sul potenziale di ossido-riduzione dei batteri. Le misure del potenziale di ossido-riduzione dei bacilli tetanici durante lo sviluppo eseguite principalmente da KNIGHT e FILDES¹ mostrano che lo sviluppo si accompagna ad una curva di potenziale ben caratteristica la quale a sua volta si verifica solo in presenza dei gruppi sulfidrilici.

Anche la presenza di glucosio nel mezzo modifica la curva del potenziale di ossido-riduzione in maniera caratteristica. I prodotti di decomposizione di natura acida del glucosio determinano una discesa del potenziale quasi istantanea. In colture di bacillo coli è stato osservato che quando il mezzo contiene 1% di glucosio il valore di E_H passa entro tre ore da + 0,40 V a - 0,34–0,38 V. L'influenza della composizione del mezzo sulle curve di potenziale a volte può determinare perturbazioni abbastanza irregolari che, nella interpretazione dei risultati, esercitano una influenza dannosa. Così, ad esempio, WARD², misurando il potenziale di ossido-riduzione di sviluppo di *Entamoeba coli* coltivata in un mezzo sintetico ha osservato irregolarità che mai furono osservate quando usava come mezzo brodo peptonato. La composizione dei mezzi è un fattore preponderante nel giudizio e nella interpretazione dei risultati delle misure di questa natura. Principalmente tra i batteri aerobi si trovano vari tipi, come, per esempio, la già ricordata *Entamoeba coli*, che si distingue per la sua alta labilità di ossigeno. Lo stesso WARD³ ha osservato che le curve di E_H , quando la *Entamoeba coli* era coltivata in un mezzo sintetico, mostravano irregolarità che subito scomparivano quando al mezzo si aggiungevano quantità trascurabili di un sistema reversibile di ossido-riduzione (sale ferrico di cianuro di potassio $K_3Fe(CN)_6$). WARD spiega questo fatto con la presenza di un fattore nel brodo, capace di mantenere in equilibrio il potenziale ossido-riduzione anche in presenza dell'aria. Il mezzo sintetico o non contiene il fattore di questa azione o lo contiene in quantità insufficiente. La prova che le perturbazioni irregolari del potenziale sono causate in effetti dall'ossigeno, è data dal fatto che le stesse non si verificano quando le misure sono eseguite in condizioni anaerobie.

Tutte le alterazioni delle colture si manifestano nel potenziale di ossido-riduzione conformemente alla natura di questo. Non possedendo dati sperimentali sufficienti per poter trarre conclusioni sicure ed utili per la batteriologia pratica, mi limiterò a ricordare le ricerche, d'altra parte in numero abbastanza ridotto, sull'azione del lisozima e dei batteriofagi. HEWITT⁴

ha osservato che l'aggiunta di lisozima di albumone d'uovo a colture di *Micrococcus lysodeikticus* determina una caduta immediata del potenziale di ossido-riduzione (da - 0,05 a - 0,20 V), la quale scompare rapidamente. Manca ancora una spiegazione soddisfacente di questo fenomeno, probabilmente dovuto all'aumento dell'attività catalasica accompagnata da una inibizione degli effetti delle deidrogenasi. Si ignora ancora completamente il meccanismo per il quale si ristabilisce l'equilibrio perturbato con tanta rapidità. L'aggiunta di batteriofago non si manifesta nel potenziale di ossido-riduzione in un modo uniforme. Probabilmente oltre alla specie della coltura anche la composizione del mezzo esercita influenze che ancora non sono state sufficientemente studiate per poter vedere le relazioni.

Infine, voglio ricordare che anche le modificazioni nella tossicità delle colture possono verificarsi per il comportamento del potenziale di ossido-riduzione. PREVOT¹ ha osservato che la caduta della tossicità che si ha nel bacillo del tetano durante passaggi successivi è seguita da una progressiva diminuzione della sua capacità di riduzione, che a sua volta è determinata dalla scomparsa della deidrogenasi. È naturale che queste modificazioni determinano anche una variazione caratteristica del potenziale di ossido-riduzione.

2.º Immunologia

Pochissimo è stato fatto per stabilire il rapporto tra il meccanismo di ossido-riduzione da un lato e le reazioni immunitarie dall'altro, benché alcuni risultati permettano di supporre che il potenziale di ossido-riduzione ha una notevole importanza nei processi immunitari dell'organismo e nel suo comportamento serologico. Le emolisine, le agglutinine, le precipitine, il complemento (alessina di BUCHNER), e numerosissime tossine batteriche non sono altro che fermenti (vedi dopo le relazioni tra fermenti e potenziale di ossido-riduzione). D'altra parte, già da molto tempo si conoscevano osservazioni circa le azioni stimolanti ed inibitorie esercitate da alcuni composti chimici sulle reazioni immunitarie e che tendono a dimostrare che le sostanze aventi il *potere di accelerare* le ossidazioni esercitano anche una azione stimolante sulla produzione di anticorpi. Così, ad esempio, i metalli colloidali studiati da ROBIN e BORDET², come anche da BOSSON e MARCELET³ stimolano la produzione di anticorpi (opsonine). Gli arsenicali aumentano la produzione delle agglutinine, e così via. Numerose osservazioni hanno invece mostrato che le sostanze inibitorie delle ossidazioni producono effetti inversi a quelli delle sostanze stimolatorie. Così, ad esempio, GRAHAM⁴ ha mostrato che il

¹ B. C. J. KNIGHT e P. FILDES, Biochem. J. 24, 1496 (1930).

² W. E. WARD, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 38, 445 (1938).

³ W. E. WARD, J. Bacter. 36, 337 (1938).

⁴ L. F. HEWITT, Biochem. J. 25, 1452 (1931).

¹ A. R. PREVOT, C. R. Soc. biol. 127, 685 (1938).

² A. ROBIN e G. BORDET, C. R. Acad. Soc. 138, 788 (1904).

³ E. BOSSON e N. MARCELET, Gaz. Hôp. 81, 1227 (1908).

⁴ E. A. GRAHAM, J. Infect. Dis. 8, 147 (1911).

cloroformio, l'etere e l'alcool si oppongono alla produzione di anticorpi ed ARKIN¹ ha posto in evidenza l'esistenza di una stretta affinità tra l'ossidazione ed i fenomeni immunitari. Tuttavia, contrariamente ai risultati ricordati, POEHL² ha segnalato che i metalli colloidali non esercitano una esaltazione delle reazioni immunitarie con un meccanismo di ossidazione, ma in virtù dell'aumento del contenuto del siero in spermina, determinando un accrescimento della alcalinità del siero e, per conseguenza, favorendo i fenomeni chemiotattici. DELILLE, HILLEMAND e LESTOCQUOY³ hanno notato che le iniezioni sottocutanee di O_2 producono, generalmente, una diminuzione del numero dei leucociti nel sangue e simultaneamente una diminuzione del tasso di anticorpi nel siero. KAVASHIMA⁴ ha trovato che l'acqua ossigenata inattiva gli anticorpi naturali nel siero di cavallo. Secondo YOSHIDA⁵ il ferro colloidale, il rame ed il piombo si oppongono alla produzione di anticorpi (agglutinine) per i bacilli tifici ed alla formazione delle precipitine. NEILL, FLEMING e GASPARI⁶ nel 1927 hanno trovato che le emolisine batteriche sono inattivate dalla aria o dall' H_2O_2 e nuovamente riattivate dai riduenti, come i solfuri. Dal punto di vista profilattico ha maggiore importanza il fatto che anche i processi di difesa dell'organismo verso le infezioni vengono rinforzati con i riduenti. Una abbondante somministrazione di vitamina C, che è lo stato ridotto di un sistema reversibile (vedi dopo) rinforza il potere battericida del siero e la formazione delle precipitine specifiche verso il siero di cavallo (JUSATZ, BERSIN e KÖSTER⁷; MADISON e MANWARING⁸); inversamente nello scorbuto e nella alimentazione povera di vitamina C, il potere battericida del sangue e la formazione di precipitine sono diminuite. La vitamina C inoltre disintossica *in vivo* ed *in vitro* le tossine batteriche, per esempio, la tossina difterica (HARDE e PHILIPPE⁹; LOTZE e THADDEA¹⁰) e determina un aumento della formazione di anticorpi (COTRUFO¹¹, VASILE¹², INGRASSIA¹³, PECORELLA¹⁴, DESSY e SCIARRA¹⁵), anzitutto nei primi stadi della im-

munizzazione. SCHWARZ e CISLAGHI¹ non hanno, invece, potuto mettere in evidenza tale azione nelle cavie intossicate con tossina difterica. In parte questo è dovuto al fatto che la vitamina C viene consumata nella formazione degli anticorpi, poiché negli animali immunizzati JUSATZ² ha trovato una diminuzione di vitamina C nei surreni. Forse nella reazione tra la vitamina C e l'albumina degli anticorpi si tratta di qualcosa di analogo al legame del sistema cofermento reversibile all'albumina del fermento deidrasi, che solo in tal modo viene attivato alla efficacia completa. In connessione con l'aumento del titolo di anticorpi determinato dalla vitamina C, sta il fatto che l'abbondante somministrazione di vitamina C nelle cavie sensibilizzate attenua o impedisce i fenomeni dello *ictus* anafilattico (SCHWARZ e CISLAGHI¹; WEDGEWOOD³; LEMKE⁴); lo stesso vale per lo *ictus* istaminico e per la ipersensibilità al salvarsan (DAINOW⁵). In tutti questi casi non si tratta di un effetto vitaminico specifico della vitamina C, ma di un'azione della sua grande intensità riducente, poiché il potenziale di ossido-riduzione degli organi nello *ictus* anafilattico è fortemente aumentato e viene riportato ai valori normali per effetto della somministrazione di vitamina C, ed inoltre la vitamina C può essere sostituita integralmente da altre sostanze riduenti con un potenziale simile, come la cisteina, il glutathione, il tiosolfato o idrolisati albuminoidi contenenti il gruppo SH (detossina) (HOCHWALD⁶; LUZZI⁷); tali sostanze in analogia alla vitamina C migliorano anche i poteri di difesa verso la scarlattina (HORSTERS⁸), la tubercolosi (YAMAGISAWA⁹), la difterite, ecc. Anche gli stretti legami scoperti da ECKER¹⁰ e collaboratori tra contenuto in acido ascorbico e titolo complementare del siero, che decorrono parallelamente, si spiegano con un effetto potenziale. ECKER^{10, 11} come anche VALLEY¹², CHOW e WONG¹³ hanno mostrato che il complemento viene inattivato in maniera reversibile dagli ossidanti (ossigeno, H_2O_2 , iodio, chinone) e dalle ossidasi vegetali, sistemi, cioè, con alto potenziale ossido-riduzione, e nuovamente riattivato dai riduenti (vitamina C, glutathione, tiosolfato, H_2S e KCN), il che costituisce una chiara prova della dipendenza dell'attività complementare dal livello del po-

¹ A. ARKIN, J. Infect. Diss. 16, 349 (1915).

² POEHL, ALEXANDER M. DE, C. R. Acad. Soc. 145, 487 (1908).
³ A. DELILLE, P. HILLEMAND e C. H. LESTOCQUOY, Bull. mém. Soc. Méd. Hôp., Paris 38, 422 (1910?).

⁴ K. KAVASHIMA, Biochem. Z. 23, 186 (1915).

⁵ R. YOSHIDA, Jap. Z. mikrobiol. Path. 26, 196, 449 e 561 (1932).

⁶ J. M. NEILL, W. L. FLEMING e E. L. GASPARI, J. exper. Med. 46, 735 (1927).

⁷ H. J. JUSATZ, T. H. BERSIN e H. KÖSTER, Klin. Wschr. II 14, 1419 (1935).

⁸ R. R. MADISON e W. H. MANWARING, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 37, 402 (1937).

⁹ E. HARDE e M. PHILIPPE, C. R. Acad. Sci., Paris, 199, 738 (1934).

¹⁰ LOTZE e S. THADDEA, Klin. Wschr. II 15, 1512 (1936).

¹¹ P. COTRUFO, G. Batter. Imm. 18, 291 (1937).

¹² B. VASILE, Boll. I. S. M. 17, 480 (1938).

¹³ G. INGRASSIA, G. Batter. Imm. 22, 671 (1939).

¹⁴ F. PECORELLA, Boll. I. S. M. 19, 9 (1940).

¹⁵ G. DESSY e E. SCIARRA, ib. 19, 458 (1940).

¹ E. SCHWARZ e F. CISLAGHI, Minerva Med., II, 26, 522 (1935).

² H. J. JUSATZ, Z. Immunitätsforsch. 88, 472, 483 (1936).

³ P. E. WEDGEWOOD, Medical Bull. (1934).

⁴ C. H. LEMKE, Mschr. Kinderheilk. 67, 244 (1936)..

⁵ I. DAINOW, Presse méd. 94, 1670 (1937).

⁶ A. HOCHWALD, Klin. Wschr., I, 15, 894 (1936).

⁷ G. F. LUZZI, Biochim. Ter. Sper. 22, 92 (1935).

⁸ Cit. in J. KUHNAU, Therapie der Gegenwart 82, 335 (1941).

⁹ E. E. ECKER, L. PILLEMER, E. W. MARTIENSEN e H. GRADIS,

J. Immunol. 34, 19 (1938).

¹⁰ E. E. ECKER, L. PILLEMER, E. W. MARTIENSEN e D. WERTHEIMER, J. biol. Chem. 123, 351 (1938).

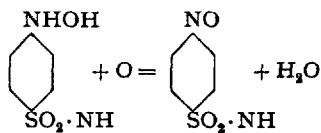
¹¹ E. E. ECKER, L. PILLEMER e D. WERTHEIMER, J. Immunol. 34, 45 (1938).

¹² G. VALLEY, J. Immunol. 15, 325 (1928).

¹³ B. F. CHOW e S. C. WONG, Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 38, 120 (1938).

tenziale. Una inattivazione invertibile del complemento avviene anche con i metalli pesanti che fissano i gruppi SH e ciò mostra che il complemento nella sua forma attiva è lo stato ridotto (solfidrilico) di un sistema ossido-riduzione contenente zolfo, del tipo del glutatione, della papaina, dell'ureasi e di altri fermenti.

Partendo dall'osservazione che i potenziali di ossido-riduzione negativi migliorano i meccanismi fermentativi della difesa antitossica e lo stato immunitario dell'organismo, risultano importanti punti di vista per la spiegazione dei fenomeni chemoterapici cui non mi sembra superfluo accennare brevemente. È stato già detto che lo svelenimento delle tossine dipende dalla presenza di sostanze riducenti e, quindi dalla esistenza di potenziali negativi. Oltre la vitamina C, la cisteina ed il glutatione, anche altre sostanze riducenti di struttura completamente diversa, che con il loro stato ossidato formano sistemi di ossido-riduzione reversibili (una prova della *aspecificità chimica* di questo fenomeno) sono capaci di neutralizzare le tossine, e precisamente, anzitutto le sostanze del carattere dei fenoli, come adrenalina, diossifenilalanina, acido omo-gentisinico (VELLUZ¹), e in primo luogo la solfanilamide (*prontosil album*), che nell'organismo viene parzialmente ossidata ad un derivato dell'idrossilamina (JAMES²) che con il suo più prossimo prodotto di ossidazione forma un puro sistema di ossido-riduzione.



VELLUZ¹, come anche STINN, MAIN e MELLON³ hanno trovato che tutte queste sostanze, compresa la solfanilamide, sono capaci di neutralizzare le tossine solo in presenza di O₂, cioè solo quando si può sviluppare con la formazione di una piccola quantità dello stato ossidato un potenziale di ossido-riduzione ben definito (negativo). La superiorità della solfanilamide sugli altri riducenti ed il suo grande campo d'azione chemioterapico sono evidentemente dovute solo al fatto che essa possiede in maniera elettiva la capacità di inattivare il fermento catalasi e, quindi, un sistema di ossido-riduzione, con potenziale fortemente positivo e determinare in tal modo nell'ambiente cellulare infetto un aumento considerevole di H₂O₂ dannoso per i micro-organismi ed il loro ricambio (LOCKE⁴ e collaboratori). Dalle misure di potenziale eseguite su colture di pneumococchi contenenti solfanilamide, è risultato infatti che l'efficacia terapeutica della solfanilamide (misurata in base all'inibizione dello sviluppo) sta in stretto legame con il potenziale di ossido-riduzione e viene inibita

¹ VELLUZ, C. R. Soc. biol. 131, 602 (1939).

² JAMES, Biochem. J. 34, 636, 640 (1940).

³ L. E. SKINN, E. R. MAIN e MELLON, R. R., Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 40, 640 (1939).

⁴ A. LOCKE, E. R. MAIN e R. R. MELLON, J. Immunol. 36, 183 (1939).

dai sistemi fortemente positivi (catalasi) o fortemente negativi (Fox e WARREN¹). È possibile che per rendere efficace la solfanilamide è necessario che questa sia combinata alle proteine (DOMAGK²): questo confermerebbe l'ipotesi di ÖSTERLIN³ secondo cui i chemioterapici non sono altro che cofermenti artificiali, cioè sistemi di ossido-riduzione reversibili, che si combinano a determinate sostanze proteiche ed in tal modo le attivano a processi fermentativi specifici. Come dimostrazione del carattere di sistema di ossido-riduzione dei chemioterapici, ÖSTERLIN³ e JANCSÓ⁴ considerano il fatto dell'inibizione, il fenomeno cioè che la loro azione curativa viene inibita da altri sistemi di ossido-riduzione (indicatori) di determinato potenziale. L'interferenza si verifica senza la partecipazione dell'organismo in quanto le sostanze coloranti che interferiscono determinano un aumento della respirazione dei germi ed in tal modo compensano l'azione dei chemioterapici sulla respirazione (per esempio della fuadina, del tartaro stibiato, degli ossidi arseniosi) allo stesso modo in cui l'azione tossica, inibente la reazione cellulare dell'acido cianidrico, del CO, e degli acidi arseniosi può essere inibita dagli indicatori di ossido-riduzione (per esempio dal cresilblau o dalla tionina-catalisina, HANSCHILD⁵, FLEISCHMANN⁶) che possono funzionare in sostituzione dei sistemi di ossido-riduzione cellulari (fermenti respiratori e citocromo) che trasportano l'ossigeno e che sono stati intossicati. Sia la capacità di rendere atossico l'HCN, sia l'effetto d'interferenza verso i tripanosomi è limitato agli indicatori con un potenziale completamente determinato, relativamente positivo (tra -0,06 e +0,07 V a ρ_{H} 7, come, ad esempio il bleu di toluidina, il cresilblau, la tionina), il che mostra che l'efficacia biologica dei chemioterapici e l'effetto tossico dell'HCN, come anche l'azione delle sostanze che migliorano i processi di difesa antitossica e lo stato immunitario, sono legati ad un potenziale chiaramente negativo. Tuttavia i potenziali ottimali dal punto di vista chemioterapico variano leggermente secondo la natura ed il ricambio del parassita contro cui si vuole agire: così ÖSTERLIN⁶ ha trovato che i plasmoti della malaria degli uccelli vengono uccisi anzitutto da sostanze indicatrici di potenziale medio. Questo si comprende ricordando le diversità precedentemente ricordate nel potenziale di ossido-riduzione e nel ricambio dei singoli germi.

3.º Chimica bromatologica

Esposte le applicazioni che, finora, il potenziale di ossido-riduzione ha trovato in batteriologia ed immunologia, passo ad esporre le principali applicazioni

¹ Cit. in J. KUHNNAU, Therapie der Gegenwart 82, 335 (1941).

² G. DOMAGK e C. HEGLER, Chemotherapie bakterieller Infektionen, Leipzig 1940.

³ ÖSTERLIN, Klin. Wschr., II, 15, 1719 (1938).

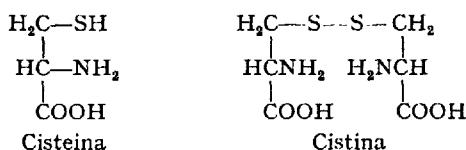
⁴ V. JANCSÓ, Z. Immunitätsforsch. 88, 275 (1936).

⁵ Cit. in J. KUHNNAU, Therapie der Gegenwart 82, 335 (1941).

⁶ ÖSTERLIN, Arch. Schiffs.- u. Tropenhyg. 41, 720 (1937).

che di esso sono state fatte in altri campi, che pur riguardano, sebbene meno da vicino, l'Igiene, e, cioè, il campo della Chimica bromatologica. Inizierò ricordando i potenziali di ossido-riduzione biochimici. Tra questi menzionerò quelli relativi ai corpi sulfidrilici, allo zucchero ed all'aldeide acetica.

1.^o *Corpi sulfidrilici.* La costituzione della cisteina e, rispettivamente, della cistina, è stata chiarita definitivamente da E. FRIEDMANN¹



THUNBERG² nel 1920 ha sottolineato l'importanza speciale che ha nel ricambio il sistema cisteina quale trasportatore di ossigeno. Pertanto il sistema cisteina-cistina è stato oggetto di una serie di ricerche di molti sperimentatori. Come il glutathione, anche la cisteina, come è mostrato dalle formole riportate, appartiene al gruppo dei corpi sulfidrilici molto importanti dal punto di vista biochimico. La prima misura potenziometrica di tali sistemi si deve a DIXON e QUASTEL³ ma si sono avuti dubbi se in questi sistemi si tratta veramente di sistemi di ossido-riduzione tipicamente reversibili. Con gli elettrodi di platino non è riuscito di ottenere valori del potenziale fissi e riproducibili, e nemmeno con l'aiuto di un elettrodo di oro. Questo potenziale è stato dipendente sia dal valore del p_{H} , sia dalla concentrazione del grado di riduzione, ma non da quella del grado di ossidazione. La ossidazione decorre regolarmente a valori di p_{H} favorevoli, ma solo con grande consumo di energia è possibile invertire il senso della reazione. MICHAELIS e FLEXNER⁴ hanno messo in dubbio la riproducibilità dei potenziali con gli elettrodi di oro e MICHAELIS ritiene possibile che nel sistema di ossido-riduzione della cisteina non rientra la cistina stessa ma un prodotto intermedio molto instabile. Le questioni connesse con il sistema cisteina sono ancora lontane dalla soluzione, anzi con i lavori sui complessi metallici dei composti sulfidrilici, si sono avute ulteriori complicazioni. Particolare importanza hanno i lavori di QUASTEL⁵, BARRON, FLEXNER e MICHAELIS⁶, KENDALL e NORD⁷, KENDALL e HOLST⁸, CANNAN e KNIGHT⁹, BORSOOK, ELLIS e HUFFMANN¹⁰ e molti altri sperimentatori.

¹ E. FRIEDMANN, Hofmeister Beitr. 3, 1 (1902).

² T. THUNBERG, Skand. Arch. Physiol. 40, 1 (1920).

³ M. DIXON e J. H. QUASTEL, J. chem. Soc., London 123/124, 2943 (1923). — M. DIXON, Proc. Roy. Soc., London 101, 57 (1927).

⁴ L. MICHAELIS e L. B. FLEXNER, J. biol. Chem. 79, 689 (1928).

⁵ J. H. QUASTEL, Biochem. J. 22, 683 (1928).

⁶ E. E. G. BARRON, L. B. FLEXNER e L. MICHAELIS, J. biol. Chem. 81, 743 (1929).

⁷ E. C. KENDALL e F. F. NORD, ib. 69, 295 (1926).

⁸ E. C. KENDALL e J. E. HOLST, ib. 91, 435 (1931).

⁹ R. K. CANNAN e B. C. J. G. KNIGHT, Biochem. J. 21, 1384 (1927).

¹⁰ H. BORSOOK, E. L. ELLIS e H. M. HUFFMANN, J. biol. Chem. 117, 381 (1937).

Per il glutathione che potè essere isolato per la prima volta allo stato puro da HOPKINS¹ valgono le stesse relazioni.

2.^o *Zucchero.* Gli zuccheri riducenti per alcuni aspetti si comportano come i corpi sulfidrilici; precisamente essi sono anche in grado di determinare agli elettrodi indifferenti un potenziale fortemente negativo che raggiunge un valore approssimativamente stabile solo dopo lungo tempo, spesso dopo giorni o, in alcuni casi, addirittura dopo settimane. Mentre, però, nella cisteina la velocità con cui viene raggiunto il valore limite, a tutti i valori di p_{H} , è bassa, negli zuccheri riducenti questa velocità dipende molto dal p_{H} . Esiste indubbiamente un legame con la forza riducente chimica degli zuccheri. In ambiente acido lo zucchero riducente è un riducente molto energico ed all'elettrodo inattaccabile determina un potenziale fortemente negativo, ma difficilmente riproducibile. La concentrazione dello zucchero non esercita una grande influenza sul valore limite del potenziale raggiunto. La velocità con cui si stabilisce il potenziale aumenta con l'aumento della temperatura.

Dopo i primi dati di GOARD e RIDEAL² e di PREISLER³ i lavori principali, che sono stati eseguiti con particolare riguardo al glucosio, si debbono a WURMSER⁴, che con i suoi collaboratori ha sviluppato una tecnica che gli ha reso possibile di lavorare anche per lungo tempo in completa assenza di O_2 e di qualunque processo di diffusione. Secondo WURMSER, i risultati da lui ottenuti sperimentalmente si debbono spiegare con il fatto che in soluzione acquosa lo zucchero in sé inattivo si trasforma in una forma attiva; questa trasformazione tautomera è reversibile e porta ad un equilibrio. A temperatura più elevata e con reazione acida, la reazione di trasformazione ha un decorso più rapido. Una tale trasformazione fu invero già ammessa precedentemente⁵, ma spiegata e basata diversamente. WURMSER ha potuto mostrare che il bleu di metilene, viene ridotto solo molto lentamente da una soluzione di zucchero fresca ad una reazione approssimativamente neutra, a freddo. Dopo più lunga conservazione in assenza di aria, o dopo un più

¹ F. G. HOPKINS, Nature 145 (1929); J. biol. Chem. 84, 269 (1929).

² A. K. GOARD e E. K. RIDEAL, Proc. Roy. Soc., London, 105, 135 (1924).

³ P. W. I. PREISLER, J. biol. Chem. 71, (1927).

⁴ R. WURMSER, C. R. Paris 185, 1038 (1927). — R. WURMSER e J. GEMOSO, J. Chimi. physique 25, 641 (1928); 26, 424, 447 (1929); id., C. R. Paris 188, 1186 (1929). — S. A. SCHON e R. WURMSER, ib. 186, 367 (1928). — E. AUBEL, L. GENEVOIS e R. WURMSER, ib. 184, 407 (1927).

⁵ E. FISCHER, Ber. Dtsch. chem. Ges. 47, 1980 (1914). — W. N. HAWORTH, Nature 116, 430 (1925). — W. N. HAWORTH e E. L. HIRST, J. chem. Soc., London, 1858 (1926); 1040 (1927). — H. H. SCHLUBACH e G. RAUCHALLES, Ber. Dtsch. chem. Ges. 58, 1842 (1925). — C. NEUBERG e M. KOBEL, Z. angew. Chem. 38, 761 (1925). — F. GOOS, H. H. SCHLUBACH e G. A. SCHRÖTER, Z. physiol. Chem. 188, 148 (1930). — P. A. LEVENE, Science 66, 560 (1927). — B. BLEYER e H. SCHMIDT, Biochem. Z. 141, 278 (1923). — B. BLEYER e A. SCHLÖMER, ib. 306, 155 (1940).

forte riscaldamento questa riduzione diviene rapida, ed a questo corrisponde un più rapido raggiungimento del potenziale finale. In queste condizioni, la determinazione del potenziale normale della modificazione attiva e del suo prodotto di ossidazione naturalmente non è una cosa semplice, però WURMSER sostiene il suo metodo con la seguente tabella, da cui si dovrebbe concludere che il potenziale normale oscilla tra -0,16 V e -0,26, il che è in accordo con i risultati ottenuti per altre vie.

Sostanza colorante	Potenziale normale in V	Riduzione con lo zucchero
Tionina	+ 0,045	
Bleu di metilene	- 0,005	Zucchero ridotto a 20° C in poche ore
Indigotetrasolfonato	- 0,070	
Indigidisolfonato	- 0,150	
Bleu di toluidina	- 0,005	Zucchero non ridotto a 20° C dopo 3 mesi.
Azzurro Nilo	- 0,165	
Fenosafranina	- 0,260	
Verde Janus	- 0,290	
Rosso neutro	- 0,370	

3.º *Acetaldeide*. Anche qui si ha la dipendenza dal p_H , che è stata osservata con lo zucchero: a determinato p_H si possono determinare potenziali limiti in qualche modo riproducibili. Sembra però dubbio se nei potenziali di ossido-riduzione così determinati si tratti di segni di equilibri, poiché con l'aggiunta di catalizzatori variano nuovamente i potenziali ed anche la velocità con cui si stabiliscono questi potenziali è maggiore. Come catalizzatore RAPKINE¹ ha usato la deidrasi del latte. Sembra che nell'ossidazione si producono prodotti primari che vanno soggetti ad una trasformazione irreversibile molto rapida.

4.º *Enzimi*. L'esempio dell'aldeide acetica già mostra come gli enzimi siano connessi col meccanismo della reazione. Se corpi come lo zucchero avessero potenziali di ossido-riduzione facilmente riproducibili e stessero in un legame facilmente reversibile con un prodotto di ossidazione quale la CO₂, si renderebbe incerta l'utilizzazione dell'energia immagazzinata nello zucchero da parte dell'organismo animale e, con ciò, l'intera vita animale. Poiché, però, lo zucchero è relativamente insensibile verso l'ossigeno, occorrono gli enzimi per renderlo attaccabile. Il complicato processo di fermentazione dello zucchero, che, malgrado molti lavori, non è ancora conosciuto in tutte le particolarità, viene sempre ulteriormente scisso in una molteplicità di singole reazioni, le quali per lo più hanno carattere ossidativo o riduttivo². Le determinazioni dei potenziali di ossido-riduzione anche in questo campo potranno portare qualche contributo alla indagine di tali singole reazioni.

¹ I. RAPKINE, J. Chim. physique 27, 202 (1930).

² J. TIKKA, Biochem. Z. 279, 285 (1935).

Come esempio ricorderò il sistema acido piruvico-acido lattico. WURMSER e MAYER¹ naturalmente in presenza di un enzima e, precisamente, di un autolisato di bacillo coli ed in presenza di cresilvioletto, a 37° C, hanno determinato un potenziale di +0,252 ± 0,002 V, valore che successivamente fu trovato e, quindi, confermato anche in presenza di altri fermenti da SZENT-GYÖRGYI² come anche da BARRON ed HASTING³.

Il potenziale di ossido-riduzione del sistema etanolo-acetaldeide è stato determinato per via elettrometrica diretta in presenza di una alcooldeidrasi da LEHMANN⁴.

Nel sistema isopropanolo-acetone egualmente WURMSER e FILITTI-WURMSER⁵ hanno adoperato una deidrasi alcollica; come sostanza elettroattiva ha servito la fenosafranina.

Analogamente sono stati studiati i sistemi acido succinico-acido maleico⁶, acido glicerinfosforico-acido piruvico⁷ ed ancora una serie di altri sistemi in cui erano sempre presenti enzimi come catalizzatori.

I riducenti come i cianuri, l'H₂S, ecc., possono in alcuni casi attivare gli enzimi. La papaina, ad esempio, può essere attivata dal cianuro⁸ e lo stesso vale generalmente per molte altre proteinasi vegetali⁹ ed animali¹⁰. Anche la cisteina ed il glutathione, in analogia al KCN ed all'H₂S, possono attivare sia la papaina che la catepsina¹¹.

D'altro lato gli ossidanti possono diminuire la capacità di azione degli enzimi, possono inattivarli completamente o distruggerli in maniera irreversibile. Tali azioni sui fermenti proteolitici sono note da parecchio tempo¹². Precisamente sono state studiate anche per la papaina, la cui inattivazione si può anche avere con l'H₂O₂, il chinone, l'iodio¹³, ecc. Il cromato di potassio¹⁴ il ferricianuro di potassio¹⁵, il perbromato, il periodato, il persolfato, il perborato¹⁶, ecc., appartengono egualmente agli ossidanti, con il cui aiuto si possono escludere in tutto od in parte, in maniera reversibile od irreversibile, le azioni enzimatiche.

In alcuni casi, però, indubbiamente, non sempre, può avvenire una riattivazione degli enzimi, che erano stati inattivati dagli ossidanti. Essa può raggiungersi

¹ R. WURMSER e N. MAYER, J. Chim. physique 30, 249 (1933).

² A. SZENT-GYÖRGYI, Hoppe-Seylers Z. 217, 51 (1933).

³ E. S. BARRON e A. B. HASTING, J. biol. Chem. 100, 155 (1933).

⁴ I. LEHMANN, Biochem. Z. 274, 321 (1934).

⁵ R. WURMSER e S. FILITTI-WURMSER, J. Chim. physique 33, 577 (1936).

⁶ K. LAKI, Hoppe-Seylers Z. 236, 31 (1935).

⁷ GODA TOKUSUKE, Biochem. Z. 297, 347 (1938).

⁸ S. H. VINES, Ann. Bot. 16, 1 (1902).

⁹ R. WILLSTÄTTER e W. GRASSMANN, Hoppe-Seylers Z. 138, 184 (1924); 151, 286 (1925); 152, 164 (1926).

¹⁰ W. GRASSMANN, H. e V. DYCKERHOFF e O. SCHÖNEBECK, ib. 186, 183 (1929).

¹¹ E. WALDSCHMIDT-LEITZ, Naturwiss. 18, 644 (1930).

¹² E. LAQUEUR, Hoppe-Seylers Z. 79, 82 (1912).

¹³ TH. BERSIN e W. LOGEMANN, ib. 220, 209 (1933).

¹⁴ A. SCHLÖMER, Michw. Fschg. 17, 326 (1936).

¹⁵ E. MASCHMANN e E. HELMERT, ib. 231, 51 (1934). —

¹⁶ I. HELLERMANN e M. E. PERKINS, J. biol. Chem. 107, 241 (1934).

¹⁷ H. JØRGENSEN, Biochem. Z. 280, 1 (1935).

in alcuni casi con l'aggiunta di glutathione, H_2S e solfuri¹. Naturalmente si è cercato di comprendere l'inattivazione anche potenziometricamente. Non può sorprendere che i potenziali di inattivazione che sono naturalmente alti, dipendono dal p_H ². Fino ad oggi le idee sull'effettivo legame tra ossidazione ed inattivazione non hanno trovato la loro forma definitiva. Secondo HELLERMANN, PERKINS e CLARK³, l'azione degli ossidanti sulla papaina ed altri enzimi è dovuta all'ossidazione dei gruppi sulfidrilici negli enzimi. Nella riattivazione si debbono riformare i gruppi sulfidrilici. Gli enzimi debbono essere attivi nella forma ridotta (Enz - SH) e divenire inattivi nell'ossidazione (Enz-S-S-Enz). A questo si oppone il fatto che una volta trasformatasi la cisteina ossidata in cistina, solo con molta difficoltà può essere ridotta nuovamente in cisteina. SCHLÖMER e BLEYER⁴ ritengono che l'inattivazione dell'amilasi lattica sia dovuta alla coagulazione del trasportatore dell'enzima.

Precisamente come per l'efficacia enzimatica esiste una temperatura ottimale ed una concentrazione idrogenionica ottimale, anche per ogni enzima esiste un potenziale di ossido-riduzione ottimale e rispettivamente un valore di r_H , o, almeno, un campo di r_H ottimale.

Nelle cellule viventi i potenziali di ossido-riduzione sono diversi; naturalmente le differenze sono massime secondo le condizioni di vita che interessano in questo senso. Questi potenziali di ossido-riduzione vengono misurati con l'aiuto del metodo della microiniezione, introducendo, cioè, nella cellula vivente soluzioni di indicatori di ossido-riduzione. Questo metodo è stato adoperato anzitutto da J. e D. M. NEEDHAM⁵ e, successivamente, da BROOKS-MOLDENHAUER⁶ per la determinazione dell' r_H nella cellula vivente, successivamente le ricerche furono proseguiti da RAPKINE e WURMSE⁷, da AUBEL e LEVY⁸, come anche da COHEN, CHAMBERS e REZNIKOFF⁹, che hanno tratto profitto dai rapporti — rappresentati nella fig. 1 — tra potenziale di ossido-riduzione, r_H ed il campo di viraggio di diversi indicatori di ossido-riduzione.

Anche se i risultati dei diversi autori non concordano completamente (il che sicuramente è da riportare,

in parte, al fatto che sono stati adoperati oggetti di esperimento di diversa natura), è, però, completamente giustificata la conclusione che nelle cellule che vivono in anaerobiosi¹, il potenziale di ossido-riduzione è in genere molto più negativo che in quelle che vivono

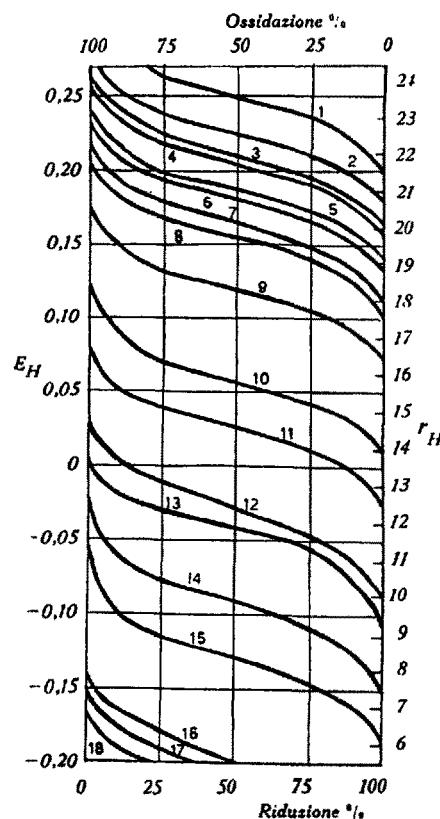


Fig. 1. Potenziali di diversi indicatori di ossido-riduzione a $p_H = 7,0$. (Di J. NEEDHAM e D. M. NEEDHAM da «Protoplasma» secondo T. THUNBERG, Handbuch der Biochemie, p. 236, Jena 1930.)
 1 m-bromofenolo indo, 2,6-dibromofenolo; 2 o-bromofenolo indo, 2,6-dibromofenolo; 3 m-cresolo indo, 2,6-dibromofenolo; 4 indofenolo, 2,6-dibromofenolo; 5 ortocresolo indo, 2,6-dibromofenolo; 6 o-cresolo, indofenolo; 7 guaiacol indo, 2,6-dibromofenolo; 8 timol indo, 2,6-dibromofenolo; 9 1-naftol, 2-solfonato-indo-ortocresolo; 10 violetto di Lauth; 11 bleu di metilene; 12 ermidina; 13 indigotetrasulfonato; 14 indigotrisulfonato; 15 indigodisolfonato; 16 verde Janus; 17 rosso neutro; 18 echinocromo.

in aerobiosi, il che non può sorprendere, poiché è da attendersi che in presenza di O_2 il potenziale di ossido-riduzione e l' r_H sono più elevati che in assenza di aria.

Anche per quanto riguarda la relazione tra accrescimento cellulare e potenziale di ossido-riduzione del mezzo esistono già alcuni lavori ai quali si è già accennato precedentemente. Secondo QUASTEL e STEPHENSON¹⁰, per esempio, il *Bacterium sporogenes* si moltiplica solo quando è raggiunto un certo potenziale di ossido-riduzione. Nel bacillo coli, al contrario, l'accrescimento, in certi limiti, è indipendente. Determinati ceppi di pneumococchi, streptococchi e stafilococchi

¹ TH. BERSIN e W. LOGEMANN, Hoppe-Seylers Z. 220, 209 (1939).

² P. REISS, C. R. Soc. biol. 120, 908 (1935); 128, 1197 (1938).

³ L. M. HELLERMANN, M. E. PERKINS e W. M. CLARK, Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A., 19, 855 (1933).

⁴ A. SCHLÖMER, E. SCHLÖMER e B. BLEYER, Milchw. Fschg. ? 20, 59 (1939).

⁵ J. NEEDHAM, Protoplasma 1, 255 (1926); Proc. Roy. Soc., London, 98, 259 (1924); 99, 175 (1925); Soc. Biol. 93, 503 (1924); 94, 833 (1925); cfr. anche: L. I. GILLEPSIE, Soil Science 9, 199 (1920).

⁶ M. BROOKS-MOLDENHAUER, Amer. J. Phys. 76, 360 (1926).

⁷ L. RAPKINE e R. WURMSE, Soc. biol. 94, 989, 1347 (1926); 95, 604 (1926). — R. WURMSE, ib. 95, 1237 (1926); Biol. Rev. 7, 350 (1932). — L. RAPKINE, Soc. biol. 96, 1280 (1927). — L. RAPKINE e R. WURMSE, Proc. Roy. Soc., B, London, 102, 128 (1927).

⁸ E. AUBEL e R. LEVY, C. R. Soc. biol. 101, 756 (1929); 104, 862 (1930).

⁹ B. COHEN, R. CHAMBERS e P. REZNIKOFF, J. gen. Phys. 11, 585 (1928).

¹⁰ Cfr. anche W. SEITZ, Z. Vitaminfsch. 9, 32 (1939).

¹¹ J. H. QUASTEL e M. STEPHENSON, Biochem. J. 20, 1125 (1926).

debbono potersi coltivare solo quando il terreno nutritivo possiede un potenziale di ossido-riduzione sufficientemente negativo¹.

5.º Processi fermentativi. Sebbene sia grande la prospettiva di pervenire ad utili e buoni risultati, nel campo della chimica bromatologica, sia nel senso stretto, come nel senso lato della parola, anche in relazione alla grande estensione di questo campo, esistono relativamente solo pochi lavori importanti. I problemi dell'ossido-riduzione, come s'incontrano nella respirazione cellulare², in tutte le specie di fermentazioni³ toccano sempre importanti questioni di chimica bromatologica. Si tratta di problemi che in molti casi sono stati risolti o debbono ancora essere risolti in stretta collaborazione con la batteriologia e quindi anche con l'enzimologia.

6.º Fermentazione alcoolica⁴. Non è qui il luogo di addentrarci nella successione delle fasi⁵ e delle molte questioni che sono connesse a queste. È già noto che le due forme di scissione desmolitica decorrono l'una accanto all'altra già nei semi in germoglio e che l'ossidazione e la riduzione sono all'ingrosso i processi che dominano anche la fermentazione.

Una serie dei lavori finora pubblicati si occupa della possibilità di utilizzare i potenziali di ossido-riduzione per seguire i processi fermentativi nella fabbricazione della birra e del vino. Col loro lavoro gli enzimi producono fermentazioni che si traducono in ossidazioni e riduzioni, dunque un dato r_H per un p_H ed una temperatura fissata. Per quanto riguarda la birra, in tutte le fasi della sua fabbricazione la variazione dell' r_H è strettamente collegata con i singoli processi. Dai lavori di DE CLERCK⁶, SEGARD⁷ e FLAMAND⁸ in Francia, di VAN LAER⁹ e MENDLIK¹⁰ in Olanda, che sono stati i primi ad applicare questi fatti all'industria della birra, risulta che l'aumento dell' r_H favorisce la fermentazione, poiché per lo sviluppo del lievito occorre precisamente l'ossigeno, anche qui indubbiamente esiste un valore ottimale dell' r_H , o, almeno, per l'accrescimento del lievito è necessario un valore minimo dell' r_H . Quando la birra è pronta è preferibile un potenziale di ossido-riduzione il più possibile basso, in modo che la fermentazione si arresti e la birra si possa conservare. Tali valori dell' r_H , nella birra ben conservabile si aggirano intorno a 10 e possono ottersi con l'esclusione dell'aria. Inoltre, è stato osservato che il sapore

di luce della birra, che appare con forte illuminazione, è in rapporto con una diminuzione troppo forte dell' r_H . Anche l'intorbidamento cui va talvolta soggetta la birra può essere messo in rapporto con bassi valori di r_H ¹¹. L' r_H è egualmente importante per il controllo della pastorizzazione della birra. È stato osservato infatti che il sapore di cotto dopo la pastorizzazione è meno accentuato nelle birre chiuse subito dopo la scomparsa della schiuma per diminuire l'aerazione che nelle birre chiuse senza precauzione o aerate prima della chiusura. Al contrario, il sapore di cotto è molto diminuito con l'aggiunta di idrosolfito (che, d'altra parte, dà per sé stesso un altro sapore sgradevole). Il sapore di cotto ed il velo che appaiono dopo la pastorizzazione si debbono quindi riportare a fenomeni di ossido-riduzione e, precisamente, ad un alto valore dell' r_H . Pertanto, è stato proposto di sottoporre alla pastorizzazione solo birre il cui r_H non sia superiore a 10^2 .

Nelle bevande a base di malto, lo stato di ossidazione, che ha grande importanza per il sapore e la conserva-

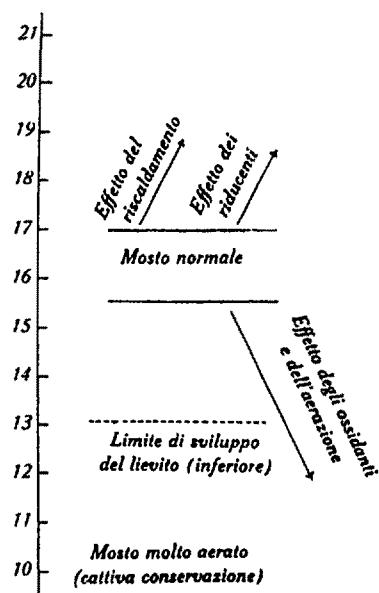


Fig. 2. Rappresentazione schematica dell'importanza dell' r_H nei mosti (sulle ordinate i valori dell' r_H al p_H 4 a 5).

bilità, può essere determinato con l'aiuto del 2,6-diclorofenoloindofenolo¹².

Nel vino, GELOSO¹³ ha stabilito legami tra l'età (invecchiamento) ed il potenziale di ossido-riduzione. Molte proprietà del vino e le condizioni del suo sviluppo stanno in rapporto con il suo stato di ossidazione. Come tutti i microorganismi, anche le feccie vinose

¹ R. DUBOS, J. exp. Med. 49, 559 (1929).

² Cfr. W. FRANKE in Hdb. der Enzymologie, Leipzig 1924.

³ Cfr. il Capitolo sulla fermentazione alcoolica.

⁴ Cfr. F. F. NORD in Hdb. der Enzymologie, Leipzig 1924.

⁵ Cfr. I. TIKKA, Biochem. Z. 279, 264 (1935). — I. K. PARNAS,

Enzymologie 5, 172 (1938).

⁶ J. DE CLERCK, Bull. Assoc. Anciens Etudiants Ecole supér.

Brass., Univ. Louvain, 34, 55 (1934); C. II, 1384 (1934).

⁷ J. SEGARD, Bull. Assoc. Anciens Elèves Inst. supér. Ferment.,

Gand, 36, 243 (1935); C. I, 1529 (1936).

⁸ A. FLAMAND, Petit J. Brasseur 46, 149 (1938).

⁹ M. VAN LAER, Bull. Assoc. Anciens Elèves Inst. supér. Ferment.,

Gand, 36, 5 (1935).

¹⁰ F. MENDLIK, Wschr. Brauerei 52, 417 (1935).

¹¹ A. STADNIK, Der Böhmisches Bierbrauer 62, 123 (1935).

¹² J. SEGARD, Bull. Assoc. Anciens Elèves Inst. supér. Ferment.,

Gand, 36, 243 (1935); C. I, 1529 (1936).

¹³ P. P. GRAY e I. STONE, J. Inst. Brewing 45, 243, 443 (1939). —

P. P. GRAY, I. STONE e H. ROTHSCHILD, Commun. Sci. Practice Brewing, M. 7, 49 (1939).

¹⁴ J. GELOSO, Ann. Brass. et Dist. 29, 177, 193, 257, 273 (1930/31).

stanno in un forte rapporto di dipendenza con il potenziale di ossido-riduzione: precisamente il valore dell' r_H ha una forte influenza sulle azioni enzimatiche nel vino¹. Nei vini fini, che sono già imbottigliati, lo sviluppo del *bouquet*, del loro aroma caratteristico, è in netta dipendenza dal potenziale di ossido-riduzione. Il valore dell' r_H generalmente deve essere abbassato a causa dell'attività biologica dei germi nel vino².

La fermentazione conduce ad equilibri determinati, oggi non ancora noti in tutta la loro estensione. Il potenziale di ossido-riduzione sta in stretto legame anche con il contenuto alcolico. Il valore dell' r_H di un vino normale, conservato a contatto con l'aria, oscilla tra 18 e 21. Quando il vino, però, viene lasciato in grandi quantità in recipienti in cui l'entrata dell'ossigeno è notevolmente ridotta anche il valore dell' r_H è più basso. Il minimo valore osservato è di circa 10 ma esso si stabilisce solo lentamente, quando il vino viene conservato più lungo tempo in completa assenza di aria, il che coincide con i dati di RIBEREAU-GAYON³.

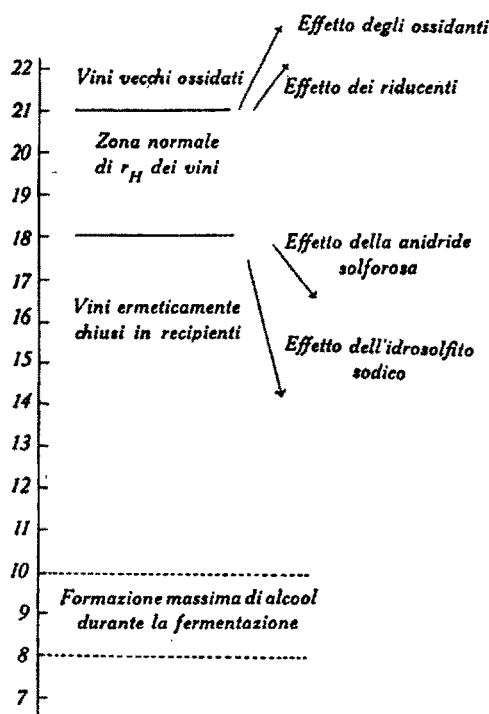


Fig. 3. Schema dei valori di r_H dei vini (sulle ordinate) (al loro p_H normale 3 a 6).

Dopo quanto è stato detto, si comprende facilmente come la determinazione dell' r_H possa trovare vantaggiosa applicazione anche nell'industria dello zucchero⁴. Lo stesso vale particolarmente anche per i rami dell'industria che si occupano di fermentazioni ossidative, come la fabbricazione dell'aceto, la produzione di acido lattico e tutti quei rami che lavorano con l'acido lat-

¹ E. GARINO-CANINA, Ann. Chim. applicata 25, 209 (1935).

² I. RIBEREAU-GAYON, Ann. Falsif. 32, 385 (1939).

³ J. DUTILLOV, Bull. Assoc. Chimistes 53, 851 (1936).

tico come conservativo, come la fabbricazione dei cavoli acidi, la conservazione dei foraggi, ecc.

7. Latte; reazione di SCHARDINGER. Una delle più antiche applicazioni della misura dell' r_H è la nota reazione di SCHARDINGER per distinguere il latte crudo da quello cotto. Se si uniscono formaldeide e bleu di metilene, si riconosce che entrambi restano in soluzione l'uno accanto all'altro senza entrare in reazione tra loro. Se si aggiunge però latte fresco non bollito, l'aldeide viene ossidata ed il bleu di metilene viene ridotto. Poichè la reazione non si produce con il latte cotto, questa notevole proprietà del latte crudo è stata riportata ad un enzima. DIXON¹ e THURLEY² sono riusciti ad isolare l'enzima in una forma molto pura ed a studiarlo ulteriormente. Anche WIELAND ed i suoi collaboratori³, come anche diversi altri autori⁴ hanno contribuito in maniera speciale a chiarire la natura dell'enzima di SCHARDINGER, a cui si sono riportate anzitutto anche le proprietà aldeiodomutasiche. CLARK ha seguito con determinazioni di potenziale eseguite ad un elettrodo inattaccabile la reazione di SCHARDINGER. Al latte crudo veniva aggiunto bleu di metilene con formaldeide e si determinava l'andamento del potenziale ad un elettrodo di oro e la variazione di colore del bleu di metilene.

Dalla fig. 4 si vede chiaramente il risultato delle ricerche. La curva superiore che decorre quasi orizzontalmente si riferisce ad una ricerca di controllo eseguita con latte cotto. Analogamente al bleu di metilene che con il latte cotto non presenta alcuna decolorazione, non si ha alcuna variazione del potenziale. Le altre tre curve mostrano l'andamento del potenziale a tre diversi valori di p_H . I cunei neri disegnati indicano simbolicamente lo stato di colorazione del bleu di metilene per il corrispondente p_H e potenziale. Il vertice del cuneo praticamente corrisponde alla decolorazione completa, la parte ampia superiore alla colorazione completa. In generale si vede che il potenziale di ossido-riduzione letto agli elettrodi mostra un soddisfacente accordo con quello dedotto dallo stato di colorazione del bleu di metilene. I potenziali si stabiliscono anche in assenza del bleu di metilene. Il potenziale del latte crudo in circa due ore dopo la mungitura scende da +0,3 V, assintoticamente a -0,2 V. KODOMA⁵ ha creduto che questa variazione di potenziale si dovesse riportare a cause batteriche e che la formaldeide nel latte sterile senza bleu di metilene non determinasse un potenziale determinato. Sebbene questa obiezione

¹ M. DIXON e LUTWAK-MANN, Biochem. J. 31, 1847 (1937). — M. DIXON, Enzymologia 5, f. 3 (1938); Erg. Enzymfsch. 8, 217 (1939).

² THURLEY, cit. in L. MICHAELIS, Oxidations-reductions.

³ H. WIELAND, Ber. Dtsch. chem. Ges. 47, 2085 (1914). — H. WIELAND e B. ROSENFELD, Liebigs Ann. 477, 32 (1930). — H. WIELAND e MANN, ib. 483, 217 (1930). — H. WIELAND e MITSCHELL, ib. 492, 156 (1932).

⁴ E. A. H. ROBERTS, Biochem. J. 30, 2166 (1936). — L. BURNHAM, Lait 12, 785 (1932).

⁵ K. KODOMA, Biochem. J. 20, 104 (1926).

non possa essere trascurata, poiché in esperimenti di lunga durata indubbiamente si determina la diminuzione del potenziale di ossido-riduzione per effetto dello sviluppo batterico, essa è stata respinta da CLARK¹. Se, precisamente, si lavora con un latte già povero il massimo possibile di germi l'azione batterica comincia

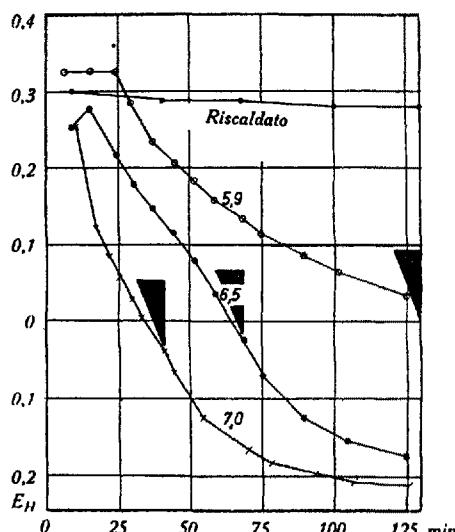


Fig. 4. Reazione di SCHARDINGER.

solo più tardi e, nel tempo, può essere ben separata dalla formazione di potenziale determinata dall'enzima di SCHARDINGER.

Questo enzima, che dopo SCHARDINGER², ha richiamato l'interesse di numerosi ricercatori, catalizza non solo il sistema formaldeide-bleu di metilene, ma piuttosto reagisce anche con altre aldeidi e sostanze coloranti. In luogo del bleu di metilene sono stati anche adoperati e proposti: il rosso neutro³, il verde Janus⁴, la resazurina⁵ e l'azzurrufina⁶. Poiché le zone di viraggio dei diversi indicatori cadono in diversi punti della scala dell' r_H , i tempi di reazione sono diversi. In ogni caso l'enzima di SCHARDINGER ci offre una possibilità di controllare lo stato del latte. STRYNADKA⁷ ha visto la dipendenza dal contenuto del latte in leucociti.

La reazione di SCHARDINGER in certo modo dipende anche dall'azione della luce⁸, dalla quantità di grasso e naturalmente anche dalla presenza dello ossigeno dell'aria.

L'enzima, che appartiene alle deidrasi, con un composto attiva l'ossigeno (peridridasi) e con gli altri lo porta alla reazione. Come accettori di idrogeno oltre

le sostanze coloranti possono funzionare diverse sostanze, tra le quali anche l'ossigeno e l' H_2O_2 . Appartiene quindi alle aerodeidrasi ed al gruppo dei fermenti gialli. Secondo le ricerche di SCHWARZ e FISCHER¹, che si basano sui lavori di SCHWARZ⁹, come portatore dell'enzima di SCHARDINGER si deve considerare l'involucro proteico delle goccioline di grasso che si può concentrare nel siero del burro. Il preparato fortemente purificato contiene ancora come componente integrante l'albumina. Il complesso enzimatico non si può scindere con la dialisi e l'ultrafiltrazione, ma con gli acidi diluiti si può scindere in albumina (sostanza portatrice) ed una sostanza colorante bruna di composizione ignota.

L'enzima di SCHARDINGER tocca però solo una delle questioni che qui interessano. Indubbiamente nel latte¹⁰ e nei suoi derivati esistono parecchi sistemi di ossido-riduzione, che attendono di essere studiati con questo metodo. La questione della perossidasi, la questione del sapore di ossidazione¹¹ e diverse altre possono essere studiate sicuramente con successo. A questo campo appartiene forse anche il meccanismo con cui si determina il peggioramento del sapore del latte e dei suoi derivati con contenuto metallico, poiché da una serie di ricerche già conosciamo l'importanza particolare dei complessi metallici per i sistemi di ossido-riduzione¹². A questi appartengono anzitutto i complessi dei corpi sulfidrilici contenenti ferro, rame o cobalto, la cui importanza è già stata rilevata.

Secondo le osservazioni di MOHR e BAUR¹³, i dati relativi al p_H dei derivati acidi del latte, ottenuti con l'elettrodo a chinidrone si debbono utilizzare con speciale riserva, quando questi prodotti sono stati in contatto con determinati metalli. Esiste in ogni modo la possibilità che i potenziali di ossido-riduzione abbiano influenza su questi potenziali.

8.º Formaggio, grassi. Poiché nella fabbricazione e nei processi di stagionatura del formaggio¹⁴ e del burro si tratta spesso di processi enzimatici, ci si deve attendere che anche in questo campo si possano ottenere buoni risultati. BRUERE e FOURMONT¹⁵ hanno comunicato una prova della rancidità mediante la prova al perossido con l'aiuto degli indicatori di ossido-riduzione.

¹ G. SCHWARZ e O. FISCHER, Ber. 11. Weltmilchkongr., Berlin, Vol. II, 559 (1937).

² G. SCHARDINGER, Milchw. Fschg. 7, 540, 558, 572 (1929).

³ R. S. TWIGG, J. Soc. chem. Ind. 56, 129 (1937).

⁴ G. R. GREENBANK, J. Dairy Sci. 23, 391 (1940). — D. H. NELSON e C. D. DAHLE, ib. 23, 391 (1940). — W. CARLSON BROWN e L. M. THURSTON, ib. 23, 629 (1940). — A. M. SWANSON e H. H. SOMMER, ib. 23, 597 (1940).

⁵ L. MICHAELIS e E. FRIEDHEIM, J. biol. Chem. 91, 343 (1931). — L. MICHAELIS e E. S. G. BARRON, ib. 81, 29 (1929). — E. C. KENDALL e I. E. HOLST, ib. 91, 435 (1931).

⁶ W. MOHR e K. BAUR, Vorratspflege und Lebensmittelgesch. 2, 337 (1939).

⁷ K. J. DEMETER e A. J. JANOSCHEK, Zbl. Bakter., II, 103, 257 (1941).

⁸ P. BRUERE e A. FOURMONT, Ann. Falsif. 25, 91, 132 (1932).

⁹ W. M. CLARK, B. COHEN e M. X. SULLIVAN, Suppl. Nr. 66 del Publ. Health Reports (1927).

¹⁰ F. SCHARDINGER, Z. Untersuchung Lebensmittel, 5, 1113 (1902).

¹¹ P. SOMMERFELD, Pharm. Zentralbl. 53, Nr. 51 (1912).

¹² CHRISTIANSEN, Molk. Z., Hildesheim, 40, 1819 (1926).

¹³ K. L. PESCH e U. SIMMERT, Milchw. Fschg. 8, 568 (1929).

¹⁴ K. J. DEMETER e J. FÖRG, Dtsch. Molk. Z., Kempten, 32 (1934).

¹⁵ N. J. STRYNADKA e H. R. THORNTON, J. Dairy Sci. 21, 561 (1938).

¹⁶ E. MARTINI, Biochein. Z. 260, 153 (1933).

L'autossidazione, la perossidabilità e la loro diminuzione determinata dagli antiossidanti¹, compresa la spiegazione dell'azione delle sostanze che inibiscono l'ossidazione sono temi la cui trattazione offre prospettive di successo.

9.^o *Panificazione.* Nella panificazione, l'impasto risultante dalla farina e dall'acqua, con l'aggiunta di sale da cucina ed in dati casi anche di zucchero, viene reso molle con l'aiuto della CO_2 formatasi mediante gli enzimi del lievito. Nella preparazione della pasta la maggiore importanza spetta alle desmolasi di diversa natura, accanto alle amilasi ed alle proteasi. La fermentazione della pasta dipende: dalla quantità di zucchero fermentabile, che in piccola parte è già presente nella farina, ma che, in maggiore quantità, viene formato solo dall'amilasi; dalle sostanze nutritive del lievito; dalla quantità e dall'attività enzimatica del lievito; dalla temperatura; dal valore del p_H e da diversi fattori. Se ora già il potenziale di ossido-riduzione della farina stessa è un po' diverso² e a questo si aggiungono ancora i processi fermentativi accennati, si comprende facilmente che le variazioni dell' r_H nel corso della fermentazione della pasta hanno una speciale importanza per il prodotto finale. Secondo VAN LAER³, il valore del potenziale di ossido-riduzione delle farine che all'inizio è ad un r_H di 18-19, con la fermentazione scende fino a 15, ma può diminuire ulteriormente (fig. 5). CARBONELLE⁴ ha studiato l'influenza del glutazione contenuto nello estratto di lievito sulle proprietà fisiche della pasta. I lieviti di cereali sono più ricchi in glutazione dei lieviti di melassa e pertanto determinano un maggiore rammollimento della pasta. Con l'aggiunta di iodato si possono diminuire maggiormente i fenomeni di fluidificazione. In opposizione a JØRGENSEN⁵, CARBONELLE ammette che non si tratta solo di una attivazione degli enzimi proteolitici, ma della influenza delle variazioni del potenziale di ossido-riduzione.

10.^o *Frutta, legumi.* Nelle frutta e nei legumi potrebbero aversi rapporti tra il potenziale di ossido-riduzione e le condizioni di conservazione. I potenziali di ossido-riduzione della poltiglia di patate ad esempio, secondo FRIEDRICH⁶, sono soggetti alle influenze della provenienza, della temperatura di conservazione e della stagione.

11.^o *Determinazione della vitamina C.* Succhi ed estratti di parti di vegetali freschi posseggono talvolta un potere riducente abbastanza forte che può essere determinato con l'aiuto degli indicatori di ossido-riduzione, ma non con tutti, per esempio, non con il bleu

di metilene, come ha osservato¹ TILLMANS². Poichè si è visto che un altro indicatore di ossido-riduzione, e, precisamente il 2,6-diclorofenoloindofenolo si faceva scolorare facilmente TILLMANS ha proposto di adoperare la sostanza non come indicatore ma come ossidante. In tale modo si è avuto un metodo per la determinazione della vitamina C, poichè nelle sostanze

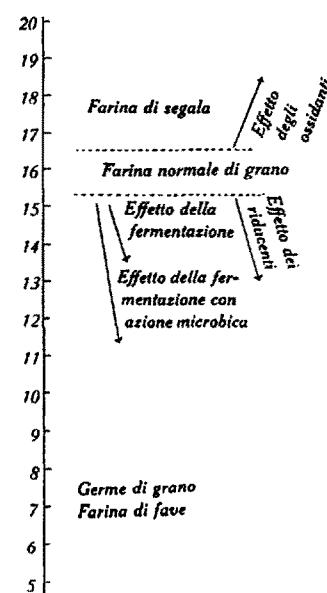


Fig. 5. Rappresentazione schematica dell' r_H dei grani e delle farine (valori sulle ordinate; $p_H = 6,2$).

che determinano il potere riducente si tratta principalmente dell'acido *l*-ascorbico. Il metodo di TILLMANS per la determinazione dell'acido ascorbico, che successivamente è stato esattamente formulato e migliorato da STROHECKER e VAUBEL³, può, quindi, in certo modo essere ascritto tra le applicazioni del potenziale di ossido-riduzione, metodo che è stato sempre più integrato⁴ e la cui esattezza è stata confermata anche recentemente dalla concordanza con i risultati ottenuti con altri metodi⁵.

III. Considerazioni finali

Riassumendo i risultati ricordati, bisogna dire che si sta ancora all'inizio. I fatti ora illustrati, che riguardano una serie dei punti di contatto del metodo di determinazione dei potenziali di ossido-riduzione e, rispettivamente dei valori r_H con molti problemi che in-

¹ R. STROHECKER e R. VAUBEL, Angew. Chem. 49, 666 (1939).

² J. TILLMANS, Z. Untersuchung d. Lebensmittel 54, 33 (1927); 60, 34 (1930). — J. TILLMANS, P. HIRSCH e E. REINS, ib. 56, 272 (1928). — J. TILLMANS, P. HIRSCH e JACKISCH, ib. 63, 241 (1932). — J. TILLMANS, P. HIRSCH e H. DICK, ib. 63, 267 (1932). — J. TILLMANS, P. HIRSCH e R. VAUBEL, ib. 65, 145 (1933).

³ Almeno non in tutti i casi, poichè E. MARTINI e A. BONSIGNORE, Biochem. Z. 273, 170 (1934), hanno osservato che con forte illuminazione il bleu di metilene può essere decolorato dall'acido ascorbico.

⁴ I. STONE, Ind. Eng. Chem., Anal. Edit. 32, 415 (1940). — A. C. HONIG, Pharm. Weekbl. 504 (1940).

⁵ C. GRIEBEL e G. HESS, Z. Untersuchung d. Lebensmittel 78, 308 (1939); 79, 168 (1940); 80, 322 (1940).

¹ K. TAUFEL e J. KOCHLING, Fette u. Seifen 46, 554 (1939).

² P. POTEL e R. CHAMINADE, C. R. Acad. Sci. 200, 2215 (1935).

³ M. VAN LAER, Congr. chim. Ind., Bruxelles, 15, I, 455 (1935).

⁴ CARBONELLE, Ann. Zymol. 4, 171 (1938).

⁵ JØRGENSEN, C. R. Lab. Carlsberg f. 22 (1938).

⁶ G. FRIEDRICH, Angew. Bot. 21, 374 (1939).

teressano la microbiologia e la chimica bromatologica, sono più prospettive di un futuro che un quadro dello stato attuale.

Questa relativa scarsezza di risultati ha forse la sua origine nella esagerata specializzazione che attualmente pesa non solo sulla batteriologia e le scienze mediche, ma anche su tutte le scienze naturali. Il rapido sviluppo delle scienze naturali, principalmente delle biologiche, ha portato con sè, dagli ultimi decenni del secolo scorso, una specializzazione che ha i suoi vantaggi, ma anche i suoi svantaggi. Questi ultimi si manifestano in parte nella riduzione dell'orizzonte scientifico dei ricercatori, che determina una crescente diminuzione di spiriti coordinatori e sintetici e, per conseguenza, i rappresentanti ed i cultori delle scienze divengono semplici tecnici ed in parte ignorano le tecniche delle scienze estranee ed affini. Questo si verifica pur sapendo tutti che l'applicazione di metodi nuovi può essere utile alla risoluzione di problemi per i quali non hanno ancora avuto applicazione. È anche generalmente noto che problemi di fondamentale importanza possono essere chiariti quando vengono studiati ed elaborati sotto diversi punti di vista, *ceteris paribus*, con diversi metodi. Il progresso delle scienze non ci permette di giungere allo stato ideale, al dominio di conoscenze profonde di differenti rami con le sue diverse tecniche per un solo ricercatore. Si ha per questo un'unica possibilità: la collaborazione. I diversi studiosi debbono mettere tutte le loro conoscenze di particolari al fine di risolvere i problemi tuttora aperti. I veri frutti della nuova interpretazione dei

fenomeni di ossidazione e riduzione debbono essere visti attraverso i lavori di una felice collaborazione di batteriologi, biochimici e chimico-fisici. Quanto più stretta sarà la collaborazione dei rappresentanti di queste tre scienze, tanto più vicino sarà il giorno nel quale potremo coglierne i frutti.

Summary

After a short reference to the fundamental principles of the oxidation-reduction potential and the meaning of the symbol r_H introduced by CLARK, the author proceeds to set out, among the numerous applications which this important notion has found in various scientific fields, those found in Bacteriology and Hygiene.

As regards Bacteriology, the oxidation-reduction potential of the sterile culture media and of various aerobic and anaerobic micro-organisms has been investigated in connection with their growth. The oxidation-reduction potential has proved to be a very good means of classification and identification of the various bacterial strains.

Moreover, although the studies performed are not numerous the said oxidation-reduction potential has also been shown to have a great importance in the determination of the immunisation processes of the organism and in its serological behaviour.

The oxidation-reduction potential, furthermore, has found very large applications in the field of alimentation, from the problem of fermentations, such as the alcoholic fermentation and the bread fermentation, to the distinction between raw and boiled milk by means of SCHARDINGER's reaction.

In the future, the possibilities for application and development of the oxidation-reduction potential appear to be even more considerable.

Zur Einteilung des Ostwaldschen Farbtonkreises

Von P. J. BOUMA, Eindhoven¹

1. Einleitung

In den Jahren 1916–1921 hat WILHELM OSTWALD eine «Systematisierung der Körperfarben»² vorgeschlagen³, die den Gegenstand heftiger Diskussionen gebildet hat.

¹ Natuurkundig Laboratorium der N. V. Philips' Gloeilampenfabrieken Eindhoven, Nederland.

² Diese Bezeichnung geht auf eine Arbeit von v. KRIES⁴ zurück, die die richtige Bemerkung enthält, daß die Arbeiten von OSTWALD eher «eine glückliche Systematisierung der Körperfarben» als eine neue «Farblehre» darstellen.

³ W. OSTWALD, Physik. Z. 17, 322, 352 (1916); Die Farbenfibel, Leipzig 1916; Z. physik. Chemie 91, 132 (1916); 92, 222 (1917); Abh. Sächs. Ges. Wiss. (math. phys. Kl.) 34, 462 (1917); Der Farbenatlas, Leipzig 1917; Die Farbenlehre, I: Mathematische Farbenlehre, Leipzig 1918; Die Farbenlehre, II: Physikalische Farbenlehre, Leipzig 1919; Der Farbnormenatlas, Leipzig 1920; Physik. Z. 22, 88, 125 (1921); S.-B. Preuß. Akad. Wiss. (Phys. math. Kl.) 30, 414 (1937); S.-B. Preuß. Akad. Wiss. (Phys. math. Kl.) 30, 417 (1937).

⁴ J. v. KRIES, Z. Sinnesphysiol. 50, 117 (1919); — K. W. F. KOHLRAUSCH, Physik. Z. 21, 478 (1920); Physik. Z. 22, 402 (1921); — E. SCHRÖDINGER, Physik. Z. 20, 349 (1925). — A. SCHÄFER, Physik. Z. 27, 347 (1928). — A. SCHÄFER und H. PEGE, Physik. Z. 31, 720 (1930); 32, 1 (1931). — J. GUILD, Nature 129, 453 (1932).

Neben den Gegnern des OSTWALDSchen Systems⁵ und dessen Verteidigern⁶ ist eine dritte Gruppe entstanden^{7–8}, die sich bemüht, durch Entfernung der unrichtigen Stellen und durch Verschärfung der Definitionen das OSTWALDSche System zu retten und es

⁵ J. v. KRIES, Z. Sinnesphysiol. 57, 461 (1925). — R. LUTHER, Z. techn. Physik. 8, 540 (1927).

⁶ M. RICHTER, Z. techn. Physik. 12, 582 (1931).

⁷ M. RICHTER, Grundriß der Farbenlehre der Gegenwart, S. 110, Dresden 1940.

⁸ M. RICHTER, Licht 11, 75 (1941); Licht 13, 12 (1943).