

Considerazioni sulle possibilità di produzione industriale della papaina in Somalia.

GENERALITÀ.

La coltura della Papaia, diffusa in molte parti della Somalia, specialmente nelle zone rivierasche dei fiumi e nella regione mesopotamica, è effettuata sopra tutto in vista della produzione di frutta a scopo alimentare.

Nelle zone citate clima e terreni sono molto adatti allo sviluppo della pianta, tanto che essa cresce e fruttifica senza che le vengano dedicate le particolari cure che altre piante, come il Mango, richiedono. Per i nativi, presso i quali è pure assai diffusa, costituisce una generosa ed economica riserva alimentare.

Nonostante la facilità di coltivazione, altri usi, oltre quello alimentare, sono stati finora in Somalia trascurati. Solo un periodo di crisi per la coltura bananiera, come quello corrispondente alla chiusura del canale di Suez, ha potuto richiamare l'attenzione degli agricoltori locali sulla possibilità di preparare la papaina, sia grezza che purificata, in una zona, come la Somalia, in cui la coltura della pianta da cui si ricava è particolarmente favorevole.

Attualmente la produzione è poco più che allo stato sperimentale. Possibilità di esportazione permettendolo, non è esclusa l'utilità di impiegare capitali per una effettiva industrializzazione della coltivazione.

Scopo del presente studio è di raccogliere alcuni dati disponibili sull'argomento e di mettere in evidenza quelli che eventualmente potessero servire al caso della Somalia.

L'A. sente il dovere di ringraziare l'Istituto Agronomico per l'Oltremare di Firenze, la Facoltà di Chimica dell'Università di Firenze ed il Ministero dell'Agricoltura della Somalia, che gli hanno permesso di eseguire le prove di Laboratorio, di consultare le Biblioteche e gli hanno messo a disposizione quanto serviva alle ricerche nella materia.

NOTE BOTANICHE E COLTURALI.

La papaia (*Carica papaya* L.) è una pianta erbacea dioica appartenente alla famiglia delle Caricaceae, il frutto è una grossa bacca pentamera, contenente numerosissimi semi mucillagginosi, ed ha forma simile al melone; l'epidermide è liscia, verde più o meno intensa, assai sensibile agli urti.

La parte interna della polpa, toltine i semi e la parte mucillagginosa, è edule, e costituisce il 50-80% del peso totale del frutto (Kg 0,5-3,0). Il frutto maturo ha la seguente composizione chimica approssimata:

— Acqua	86	
— Sostanza secca	14	che in percentuale si compone di:
	protidi	10
	lipidi	3
	glicidi	65
	sostanze pectiche	10
	acidi organici	3
	papaina	1
	ceneri	8

La formazione di un papaieto a fini industriali non presenta difficoltà: la preparazione del terreno, previamente disboscato, si limita ad una aratura alla profondità di 35-40 cm ed ad una assolatura, piuttosto profonda, con solchi distanti 2,5-3 m l'uno dall'altro.

Una precedente coltura da sovescio è consigliabile, ma non indispensabile.

Le buchette debbono essere fatte sul fianco del solco, alla stessa distanza delle interfile. In ogni buchetta si metterà un buon numero di semi (20-25) che germineranno, in generale, per la quasi totalità; si farà seguire una generosa irrigazione. Le operazioni colturali — irrigazioni e diserbi — dovranno susseguirsi con una certa regolarità a 15-20 giorni l'una dall'altra. L'operazione da curare maggiormente è il diradamento: in successivi diradamenti (il primo sino a 5 piantine, poi a due ed infine ad una piantina per buchetta), tenendo conto del carattere dioico della papaia, si potrà conservare una pianta maschio per ogni 30-50 femmine.

Sono consigliabili concimazioni azotate (che potranno essere sostituite da colture di leguminose da sovescio) annuali, nella misura media di 50-100 gr di azoto per pianta, e fosfatiche (queste ultime solo quando si noti una flessione della produzione).

La coltura è abbastanza adattabile alle variazioni della reazione del terreno: può prosperare bene in terreni a reazione da sub-alcalina a sub-

acida. Un grado di alcalinità più forte deprime la produzione, mentre una maggiore acidità peggiora la qualità del lattice.

La prima raccolta del lattice può essere già effettuata dopo circa 8 mesi dall'impianto.

La varietà di papaia ambientata in Somalia presenta, oltre a grandi doti di rusticità, anche discreta resistenza agli agenti patogeni. È di conseguenza sconsigliabile l'introduzione di nuove varietà estere, a meno che ciò non avvenga sotto controllo statale e con prove di ambientamento e di quarantena da eseguirsi lontano dalle colture in produzione, al fine anche di evitare l'impollinazione — anemofila — delle varietà locali e la possibile conseguente ibridazione.

TECNICA DELLA RACCOLTA ED ESSICCAMENTO DEL LATTICE DI PAPAIA.

Il lattice viene raccolto effettuando, sul frutto non ancora maturo, tre incisioni profonde circa due mm; le incisioni saranno eseguite mediante coltelli di osso o di plastica, in quanto il lattice fresco attacca i metalli.

Il lattice che cola dalle incisioni viene raccolto su tele cerate o fogli di politene distesi attorno al tronco, sotto il grappolo della frutta. Un po' del lattice, che si coagula assai rapidamente a contatto dell'aria (10-15'), rimane attaccato al frutto. Questo verrà raccolto in un passaggio successivo in quanto fornisce un prodotto di seconda qualità.

Per ottenere un massimo di lattice dai frutti, è necessario operare nelle prime ore del mattino e, preferibilmente, in giornate con cielo coperto. Ciò per esser favoriti da un più lungo tempo di coagulazione — e quindi di colata — dovuto alla minore temperatura ambientale, che favorisce anche la conservazione dell'attività enzimatica del lattice.

Un sistema di raccolta recentemente introdotto da un produttore della Somalia, e che ci sembra di grande interesse, è il seguente:

un operaio sistema una serie di vaschette di plastica di adatte dimensioni su una pianta, tra frutto e frutto. Indi esegue le incisioni sui frutti sotto ai quali si trovano le vaschette; poi passa ad altre piante sistemando altre serie di vaschette. Quando ne ha messe a posto cinque o sei serie, torna alla prima pianta, toglie le vaschette e le passa ad una altra pianta. Le vaschette vengono infine vuotate in secchi di politene con coperchio, che saranno poi portati all'essiccatoio. In questo modo si ottiene l'assoluta pulizia del lattice, oltre che l'assenza di perdite.

Le prime incisioni al frutto si fanno quando questo è alla metà del suo sviluppo in volume e si continuano, al ritmo di tre incisioni due volte la settimana, sino a maturazione.

È da notare che tutte le parti della pianta, escluse le radici, contengono papaina: quest'ultima si trova in quantità tale da rendere conveniente la raccolta, solo nel frutto; è da notare inoltre che incisioni in parti della pianta diverse dal frutto potrebbero facilitare l'ingresso di infezioni parassitarie che ne diminuirebbero il periodo di attività. Le incisioni al frutto consentirebbero di sfruttare la pianta anche per sei o sette anni se questa non crescesse troppo in altezza.

La produzione di lattice fresco, per mille piante, può essere riassunta come segue:

I	anno di coltura	Kg	80-100
II	» »	»	100-150
III	» »	»	100-150

Il sistema più semplice ed economico di essiccamento del lattice è quello di esposizione diretta al sole, su tele cerate di politene. Questo sistema però, all'indubbio vantaggio dell'economia, contrappone diversi svantaggi non trascurabili: facilita l'accesso di polvere e sporczia, non elimina totalmente l'umidità del lattice ed esige un tempo di essiccazione tale da permettere la parziale inattivazione del prodotto. Inoltre è facile che, con questo sistema, si superi la temperatura massima consigliata per l'essiccazione (circa 40° C., oltre ai quali la papaina viene parzialmente inattivata).

Un altro sistema, abbastanza economico è quello dell'essiccatoio aperto: questo è composto di un locale sotto il cui pavimento scorre un canale di tubi. Ad una estremità del canale si pone il focolare, all'altra estremità un camino per il tiraggio.

Anche questo sistema presenta alcuni inconvenienti: la temperatura di difficile controllo ed il tempo di essiccazione (12-14 ore) è ancora piuttosto lungo.

Questo metodo può essere però modificato e migliorato. Esistono, presso i produttori della Somalia anche forni riscaldati elettricamente e termostati, forniti di ventilatore per l'immissione forzata di aria calda sulle platee scorrevoli contenenti il lattice da essiccare.

Tutti gli inconvenienti sono comunque eliminati dall'uso di un essiccatoio a vuoto. Date le alte temperature della Somalia, si potrebbe senz'altro operare senza dover ricorrere a sorgenti di calore; l'unico consumo di energia sarebbe quindi richiesto per la pompa aspirante.

La temperatura massima di essiccazione (40° C.) corrisponde ad una pressione di mm 55 di mercurio. Per temperature inferiori le pressioni risultano dal diagramma riportato.

È necessario disporre di una pompa per vuoto piuttosto spinto (sino a circa mm 20 di mercurio), collegata all'essiccatoio mediante tubi molto corti, di materiale rigido, con flangie a smeriglio o saldate. Sono comunque disponibili sui mercati apparecchiature complete per le essiccazioni sotto vuoto, di prezzo variabile con la capacità.

Questo sistema permette di ridurre a 3-4 ore il tempo necessario per l'essiccazione, in quanto l'acqua presente nel lattice viene portata, alle temperature e pressioni indicate, all'ebollizione.

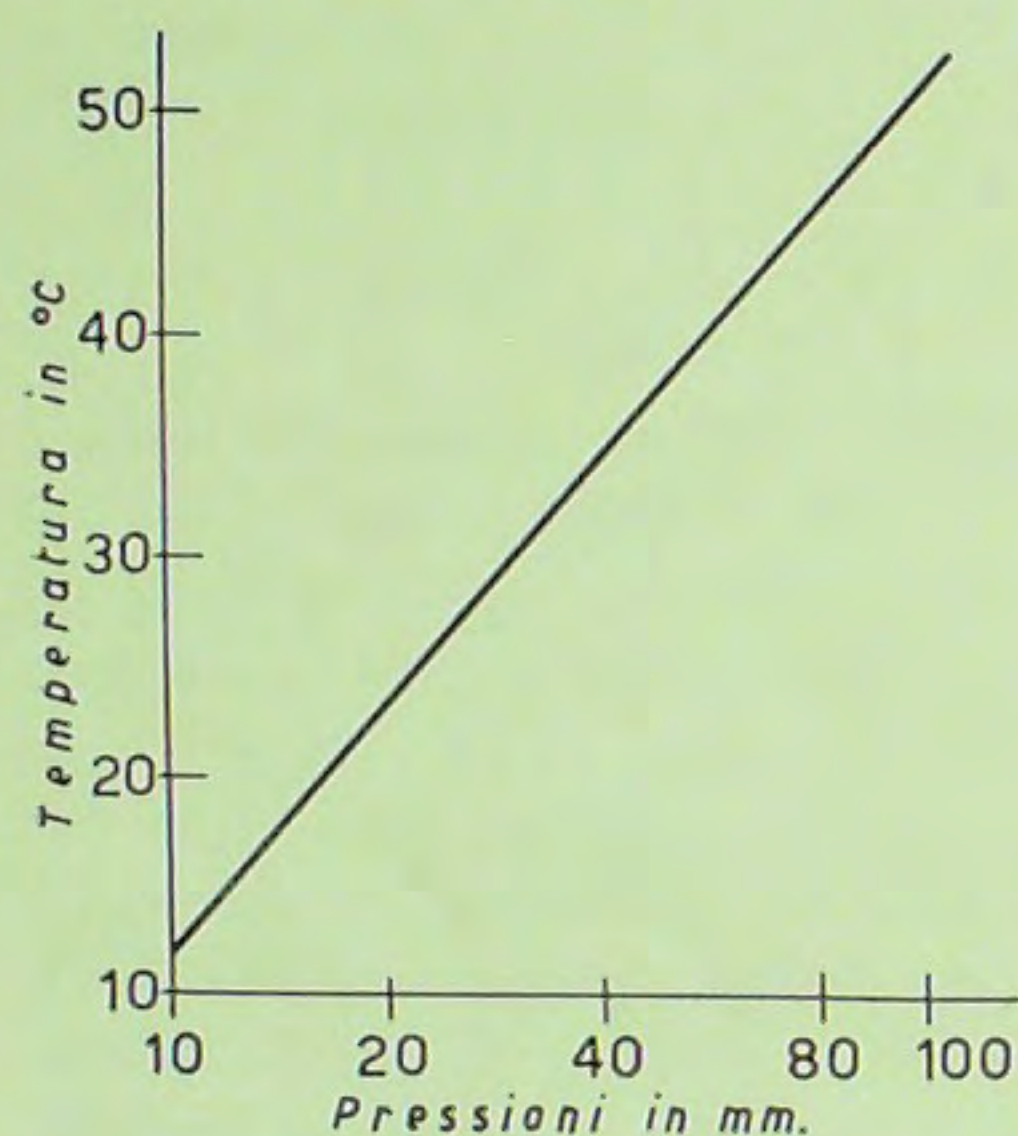


Diagramma di essiccazione per la papaina.

Tutti gli apparati per l'essiccazione del lattice di papaia debbono essere in vetro o metallo inossidabile, dato il notevole potere ossidante del lattice sotto qualsiasi forma.

Il prodotto che si ottiene dall'essiccazione ha un aspetto gommoso ed è caustico. Il suo colore varia col sistema di essiccazione usato: più chiaro, quasi bianco, con essiccatoi a vuoto; rosso aranciato, per esposizione diretta ai raggi solari. Naturalmente il colore ha grande importanza ai fini della determinazione della qualità commerciale del prodotto, in quanto permette di delimitare con una certa sicurezza anche il grado di attività posseduto dalla papaina contenutavi.

Ai fini commerciali è possibile distinguere il lattice essiccato in almeno tre categorie:

a) *color bianco latteo*, con contenuto acqueo inferiore all'1% ed attività proteolitica superiore ad 1 unità-caseina per mmg (essiccate sotto vuoto a 35-38° C.);

b) *color avorio*, con contenuto acqueo dell'1-1,5% ed attività proteolitica di 0,8-1 unità-caseina per mmg;

c) *color aranciato chiaro*, con contenuto acqueo dell'1,5-2 % ed attività proteolitica di 0,5-0,8 unità-caseina per mmg.

Il lattice con caratteristiche inferiori non può essere che difficilmente preso in considerazione ai fini commerciali.

Il prodotto derivato dall'essiccazione deve essere imballato al più presto possibile in recipienti chiusi ermeticamente mediante saldatura e nei quali (qualora si preveda un lungo periodo di conservazione) sia stato fatto il vuoto. Con questo sistema il lattice può essere conservato anche per molti mesi senza che la sua attività abbia a soffrirne, mentre senza il trattamento indicato esso perde le sue doti in brevissimo tempo.

Si ricordi, comunque, che una temperatura ambientale superiore ai 40° C. deprime in ogni caso l'attività proteolitica della papaina. Il lattice essiccato deve quindi, anche se conservato in recipienti nei quali sia stato fatto il vuoto, venire conservato in ambienti la cui temperatura non superi i 25-30° C. Con tutti questi accorgimenti, la papaina contenuta nel lattice essiccato può conservare la sua attività anche per anni.

PURIFICAZIONE DEL LATTICE ESSICCATO.

Dal lattice fresco, a non oltre 36 ore dalla raccolta, può essere direttamente estratta la papaina. Per periodi di magazzinaggio superiori è invece necessario provvedere all'estrazione partendo da lattice previamente essiccato. Per quest'ultimo, dopo averlo dissolto in tre volumi di acqua, si useranno i medesimi procedimenti di estrazione che indicheremo per il lattice fresco.

Il lattice viene acidificato sino a pH 4 mediante aggiunta di acido solforico, acetico o cloridrico (indicatore Bromofenolblù) e filtrato. L'acidificazione del succo inibisce l'azione degli agenti ossidanti. Al filtrato si aggiungono 5 volumi di alcool etilico al 92%.

Si filtra la sospensione mediante un filtro a pressione o a depressione: il residuo sul filtro viene quindi rapidamente essiccato sotto vuoto, per ridurre al minimo l'azione inibente dell'alcool sull'enzima. Il filtrato può essere, se conveniente, sottoposto a distillazione frazionata per il recupero dell'alcool.

Il procedimento suindicato può essere considerato, per la Somalia, come il meno costoso. Esistono anche molti altri metodi, che forniscono un prodotto finale più puro, ma il cui costo di lavorazione non è compatibile con l'utile che potrebbe derivarne. È da tener presente infatti che

l'unico solvente a buon mercato in Somalia è appunto l'alcool etilico, essendone una locale industria forte produttrice.

La papaina che si ottiene con il procedimento citato chiamasi « papaina pura attiva », ed è composta da una miscela di enzimi proteolitici di variabile attività. L'indice dell'attività proteolitica viene determinato mediante appropriati metodi di dosaggio — che saranno descritti più avanti — e che stabiliscono più o meno esattamente il valore del prodotto.

La papaina cristallizzata, ottenibile solo in laboratorio con sistemi piuttosto complessi non è commerciabile e serve solo per l'effettuazione di prove di confronto. In molti casi i cristalli consistono in un miscuglio di enzima attivo ed inattivo, avente un P.M. variabile da 27.000 a 30.000; contengono pure della Chimopapaina, di P.M. 45.000, che è il principale costituente (circa il 50%) della papaina pura attiva.

La papaina cristallizzata è un prodotto solubile in alcool etilico al 70% essa è attivata dai composti solfidrici e dai cianuri. È meno serbevole della papaina grezza.

UTILIZZAZIONE DELLA PAPAINA.

Gli indigeni dei paesi tropicali impiegano da lungo tempo la papaina per ammorbidire la carne. Essi avviluppano, prima di cucinarle, le vivande entro foglie di papaina, o le fanno bollire assieme a frammenti di frutto maturo.

Tali metodi hanno l'inconveniente il primo di ammorbidire le carni troppo superficialmente, il secondo di avere un'azione minima in quanto la papaina viene inattivata in soluzione acquosa bollente.

Questo impiego è stato ripreso negli Stati Uniti da industrie chimiche che preparano, per il commercio, soluzioni acquose di papaina attivata con acido lattico: con tali soluzioni si può bagnare la carne, che ammorbidisce un po'. La papaina si ossida comunque anche in questa soluzione ed ha quindi un'azione molto moderata.

Alcune industrie preparano anche polveri a base di papaina, acido citrico, cloruro di sodio ecc., che si dimostrano di gran lunga più efficaci delle soluzioni acquose, dato il substrato secco.

La papaina può anche avere usi terapeutici: l'ingestione di lattice fresco o di una soluzione di papaina ha per effetto una digestione dei vermi intestinali, in particolare degli ascaridi e della tenia. Tale azione viene confermata anche dagli esperimenti eseguiti « in vitro »: in ogni caso l'irregolarità dei risultati e possibili disturbi ai pazienti (che arrivano sino alla provocazione di ulcere gastriche o gastro-intestinali) ne consi-

gliano una messa a punto assai accurata prima di prescrivere tale metodo di cura.

Una interessante applicazione terapeutica (anche questa allo stato sperimentale) può essere la cura dei tumori cutanei, che una pasta a base di papaina può eliminare per digestione enzimatica.

Questo enzima può sostituire anche la papaina gastrica: in questo caso il suo impiego si è dimostrato assai efficace in numerosi casi di dispepsia e di indigestione.

Il maggior campo di applicazione della papaina resta comunque quello industriale: particolarmente negli Stati Uniti, della papaina viene fatto uso nella chiarificazione della birra, nell'ammorbidimento delle pelli e nella distruzione dei frammenti di carne che vi rimangono attaccati, nell'industria tessile, per la preparazione della lana alla filatura e nell'industria chimica in generale.

NOTE SULLA PRODUZIONE E SUL MERCATO DELLA PAPAINA. POSSIBILITÀ ECONOMICHE DELLA COLTURA IN SOMALIA.

Da molti anni, la papaina attira l'attenzione dei produttori agricoli delle zone tropicali del globo. Le possibilità economiche del prodotto sono comunque, piuttosto limitate — si può dire che l'unico paese importatore sia gli U.S.A. — e i prezzi sono soggetti a fluttuazioni considerevoli.

La produzione è influenzata da numerose incertezze economiche; le principali vertono sulla variabilità dei prezzi e sulla variabilità delle disponibilità mondiali.

In generale, è più vantaggiosa l'esportazione della papaina in granuli a quella in polvere: quest'ultima infatti viene considerata come prodotto trasformato ed è pertanto suscettibile di tassazione alle dogane USA.

I principali paesi produttori sono:

Ceylon, che è il più antico produttore, esportando papaina dal 1903, Uganda e Tanganica, Congo Belga, Giappone, Samoa, Unione del Sud Africa, Mozambico ed altri.

Gli Stati Uniti negli anni dal 1920 al 1930, hanno aumentato il loro consumo di papaina sino a stabilizzarlo, alla luce delle statistiche posteriori a quell'anno, su una media di circa t 140 annue. Le richieste degli Stati Uniti non riflettono, necessariamente, le necessità immediate di papaina, in quanto, pur stimando che questa, a causa del periodo di magazzino, perda un po' della sua attività proteolitica, è altrettanto vero che la papaina, se ben preparata e ben imballata, conserva quasi intatta la sua attività per qualche anno.

È noto che la papaina ha sempre subito forti fluttuazioni di prezzo. In questo periodo il mercato è piuttosto disorganizzato causa la forte ascesa dei prezzi, dovuta alla caduta della produzione di Ceylon e alla conseguente facilitata esportazione da parte degli altri paesi produttori.

Per portare un esempio pratico, le esportazioni del Tanganica, di Ceylon e dell'Uganda — oltre che le importazioni americane — del 1947 furono notevoli ma non eccezionali: la produzione, in aumento nei tre paesi, portò leggermente al disopra della normalità le disponibilità mondiali: si seppe infatti che la produzione dell'Est africano aumentava rapidamente e che la produzione di Ceylon riprendeva. Così, nel 1948 le quantità disponibili furono fortissime. Esse sorpassarono del 50% circa le richieste dei Paesi importatori, con la conseguente disastrosa caduta dei prezzi.

Come si vede dalle brevi note precedenti, la papaina è un prodotto economicamente assai incerto, in quanto legato quasi totalmente alle richieste di un solo Paese importatore, ciò che difficilmente permette grandi variazioni della produzione mondiale. Pertanto la produzione della papaina deve essere affrontata con estrema cautela e deve riserbare — appunto in vista delle incertezze del mercato — grandi margini di utile per essere economicamente consigliabile.

In Somalia, i costi di produzione (1) non possono essere considerati come elevati: la coltura, si è visto, prospera con molta facilità e la resa in lattice è piuttosto elevata. I costi di essiccamento non sono forti, date le alte temperature ambientali e la possibilità dell'installazione di attrezzature anche rudimentali, adattabili ad altri fini. Incide invece, in certa misura il prezzo degli imballaggi e del trasporto, specie quando si dovesse operare su quantitativi non troppo elevati o quando si dovesse condizionare il prodotto in vista di un lungo periodo di conservazione.

In conclusione, si ritiene che la produzione di papaina — se collaterale ad altre colture da reddito — sia auspicabile anche per la Somalia. Data la variabilità dei costi, il produttore dovrebbe essere in grado, di conservare, con opportuni accorgimenti di non difficile realizzazione, il prodotto anche per diversi mesi. È comunque molto importante il non basare la propria attività economica esclusivamente sulla produzione di papaina: ciò potrebbe, come si è verificato in molti paesi, condurre i produttori a rovesci finanziari non indifferenti. La papaina deve essere, in de-

(1) Per i dati relativi si rimanda all'articolo successivo « Analisi dei costi di produzione della papaina » del Gen. GIORIO, Presidente della Camera di Commercio Industria ed Agricoltura di Mogadiscio.

finitiva, coltura collaterale ad altre che, come il banano, forniscono un reddito sicuro e costante.

Sarebbe inoltre auspicabile che la produzione di lattice fosse eseguita da una grande industria, fornita dei necessari mezzi, a cui i produttori potrebbero portare il lattice da essiccare. Ciò darebbe naturalmente, la garanzia di un prodotto più puro, munito dei necessari controlli di laboratorio etc.

METODI DI DETERMINAZIONE ANALITICA DELL'ATTIVITÀ DELLA PAPAINA.

I vari metodi di dosaggio della papaina sono tutti basati sulle sue proprietà proteolitiche.

Esporremo qui di seguito due dei metodi universalmente riconosciuti: il primo, di buona precisione, e la cui esecuzione è possibile solo in laboratori chimici ben attrezzati, è basato sulla digestione della caseina e sul relativo dosaggio degli aminoacidi liberati; il secondo, meno preciso, si basa sul tempo di coagulazione del latte e, con una modesta attrezzatura, è di possibile realizzazione anche presso i produttori. Ambedue i metodi forniscono dati indicativi che possono agevolmente orientare il produttore nella valutazione del prodotto disponibile.

L'attività di una papaina può essere anche misurata dopo l'attivazione con uno dei riduttori di cui abbiamo accennato. I più impiegati sono l'acido solfidrico, l'acido cianidrico, ed il cianuro di sodio.

L'attività di una papaina può variare, comunque, secondo il substrato sul quale essa agisce, le condizioni di digestione, il pH, la temperatura. Nel corso della digestione gli aminoacidi liberati attivano la papaina. I diversi metodi di dosaggio non forniscono necessariamente risultati proporzionali né comparabili, dato che ciascuno di essi si riferisce ad uno dei particolari sistemi enzimatici contenuti nel lattice di papaina.

In pratica, quindi, per ogni singolo dosaggio dovranno essere citate tutte le relative condizioni: metodo usato, temperatura, pH, ecc.

Preparazione del campione di papaina.

a) Inattivato: Se la preparazione dell'enzima è solida, si dovrà suddividerla finemente ed impastarla con poca acqua distillata, bollita da poco, in mortaio. Indi si aggiunge acqua distillata, sino ad ottenere una sospensione all'1% (gr 1 di preparato in cc 100 di acqua). Dopo 5-10 minuti si centrifuga a 3000 giri/min. per un minuto, e si elimina il sedimento.

b) Attivato: si segue la procedura di cui sopra, usando, invece di

acqua distillata, una soluzione semisatura di acido solfidrico. Dopo la centrifugazione, la soluzione enzimatica viene immessa in termostato per un'ora a 40° C., per la completa attivazione.

Dosaggio dell'attività proteolitica mediante digestione della caseina.

— *Reagenti:*

a) Soluzione di Caseina: si prepara una soluzione al 6% di « caseina sec. Hammarsten » (Merck): 60 gr di caseina vengono dissolti in mortaio con poca acqua; indi si aggiungano 60 cc di sodio idrato normale ed acqua sino a 1000 cc. Si scalda la soluzione a bagnomaria per 30 min. e si filtra dopo raffreddamento.

b) Soluzione tampone: sodio citrato monobasico quintinormale. Questa soluzione può essere eventualmente preparata per parziale neutralizzazione di acido citrico quintinormale con sodio idrato quintinormale, secondo la seguente reazione: $C_6H_8O_7 + NaOH \rightarrow NaC_6H_7O_7 + H_2O$.

c) Soluzione titolante: potassio idrato decinormale alcolica.

d) Indicatore: timolftaleina 1% alcolica.

— *Determinazione:*

Si pone in un matraccio con tappo a smeriglio da 125 cc, 10 cc di soluzione di caseina assieme ad alcune palline di vetro di circa 4 mm di diametro. Si porta a 40° C., indi si aggiunge una quantità, non superiore a 4 cc, di soluzione enzimatica (qualora questo volume risulti insufficiente ai fini della determinazione, si preparerà un campione di papaina più concentrato), e, immediatamente, 3 cc di soluzione tampone, verificando che il pH del sistema sia di $5 \pm 0,1$. Si agita vigorosamente il matraccio per pochi secondi e si pone, per 20 minuti, in termostato a 40° C. Il tempo deve essere contato dal momento dell'aggiunta della soluzione tampone.

Tolto il matraccio dal termostato si aggiunge 1 cc di indicatore, si inizia la titolazione: appena compare colorazione blu, si agita il recipiente sino a scomparsa della colorazione e a completa soluzione del precipitato (aggiungere la sol. titolante a 0,5 cc per volta). Quando tutta la caseina precipitata è passata in soluzione, il contenuto del recipiente viene passato in un altro matraccio da 400-500 cc. Il primo matraccio viene lavato con alcool (usandone in tutto 25 cc) che verrà poi aggiunto alla soluzione. Si aggiunge altra soluzione titolante, sino a ricomparsa del blu, e, dopo, 175 cc di alcool bollente. Poi si aggiunge ancora della soluzione titolante,

sino a completa e distinta persistenza della colorazione blu nella soluzione.

Si deve eseguire una titolazione di controllo su una soluzione identica alla precedente, ma non incubata in termostato. La differenza tra le due titolazioni misura l'attività proteolitica dell'enzima.

— *Calcolo dell'Unità proteinase:*

Per piccole quantità di enzima, l'estensione dell'idrolisi — determinata mediante la descritta titolazione — è in funzione lineare della quantità di papaina usata. Per lavori accurati, questa funzione verrà determinata con l'esecuzione di varie titolazioni su quantità diverse di enzima (ad es. su 0, 1, 2, 3, 4 cc di soluzione enzimatica). Se l'attività della papaina usata è troppo forte, la funzione diverrà troppo corta; se troppo debole, la determinazione non risulterà accurata. Si raccomandano quantità di enzima che provochino differenze di titolazione da 0,6 a 1,2 cc di sol. titolante.

Unità-Caseina, per la papaina, viene considerata la quantità di enzima che produce, con il citato dosaggio, una differenza di titolazione di cc 1 di sol. titolante, determinata aritmeticamente o graficamente. Il valore della preparazione originale viene quindi espresso in Unità-Caseina per mmg e in mmg per Unità-Caseina.

Dosaggio dell'attività proteolitica col tempo di coagulazione del latte.

La coagulazione del latte mediante papaina fornisce una determinazione, seppure utilizzabile, di larga massima. Una papaina è riconosciuta di sufficiente attività quando 1 cc di una sua soluzione campione all'1% (attivata, e inattivata, preparata secondo i sistemi indicati), provoca la coagulazione di 10 cc di latte in meno di 1 minuto.

Questo tipo di dosaggio è di grande semplicità e rapidità, la sua precisione è tuttavia influenzata dalla composizione del latte disponibile per l'esame, ovviamente variabile da zona a zona, e dalla sua freschezza.

Per quantità di enzima non troppo piccole, il tempo di coagulazione è inversamente proporzionale al peso della papaina utilizzata. Se « P » è tale peso, in mmg e « t » il tempo di coagulazione in min., si avrà:

$$A = \frac{I}{Pt}$$

essendo « A » una costante che dipende dalla papaina in esame e che caratterizza il suo grado di attività proteolitica.

L'attività di una papaina commerciale, misurata con questo metodo si aggira su $A = 0,5$. Si deve operare, naturalmente, sempre nelle stesse condizioni di temperatura ($40^{\circ} \text{C.} \pm 0,2$) e di pH ($4,6 \pm 0,1$).

Proprietà chimiche della papaina.

La papaina purificata si presenta come una sostanza polverulenta, di colore biancastro. Essa ha un odore particolare, caratteristico. La soluzione acquosa è opalescente o torbida e tende a formare un leggero precipitato. La sostanza è parzialmente solubile nella glicerina, ma praticamente insolubile nell'alcool etilico, in cloroformio e in etere.

La stabilità della papaina è sufficientemente elevata, a condizione che la si conservi protetta dall'umidità. Miscelata con sostanze assolutamente anidre, conserva tutte le sue proprietà proteolitiche. Al contrario, le sue soluzioni acquose perdono rapidamente la loro efficacia; è quindi consigliabile prepararle estemporaneamente.

L'esperienza ha dimostrato che tracce di sostanze ossidanti o di metalli pesanti sono già sufficienti a distruggere le proprietà digestive dell'enzima. La papaina sviluppa un effetto proteolitico maximum tra 50° e 60°C. A temperature superiori ad 80°C. viene inattivata.

L'attività enzimatica della papaina viene misurata in ambiente neutro o leggermente alcalino, in base al suo potere digerente sul bianco d'uovo coagulato. Una quantità determinata di papaina deve digerire, in certe condizioni sperimentali determinate, una quantità di bianco d'uovo cotto pari a 350 volte il suo peso.

BALLS e coll. hanno ottenuto la papaina allo stato cristallino. Questa sostanza è una proteina scindibile in due frazioni, la papaina propriamente detta e la chimopapaina. La papaina cristallizzata non ha ancora trovato impiego tecnico o terapeutico.

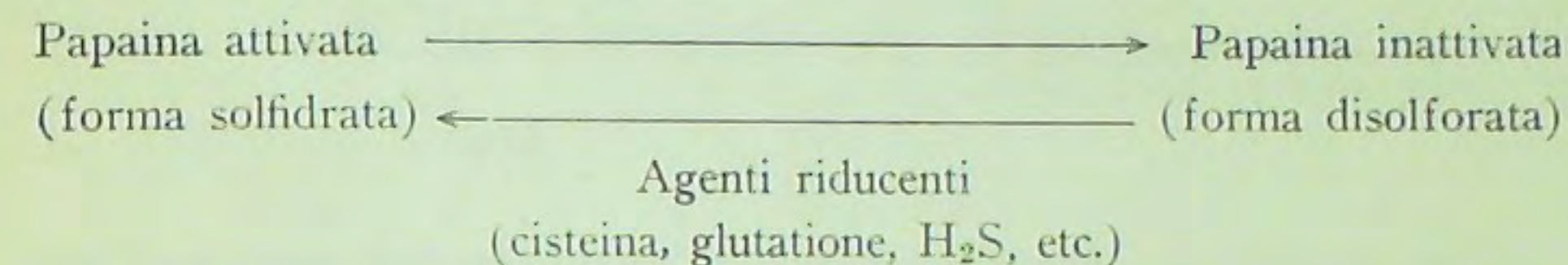
Meccanismo d'azione.

La papaina ha il potere di idrolizzare i legami peptidici delle proteine. questa azione si manifesta praticamente qualunque sia il tipo di substrato proteico. L'attività enzimatica della sostanza è legata alla presenza di proteine aventi dei tiogruppi, di glutatione e di un dipeptide costituito da cisteina e da acido glutamico.

Queste sostanze sono sempre presenti nell'enzima naturale. L'azione proteolitica del fermento non si manifesta tuttavia che quando i suoi costituenti si trovano nella forma ridotta. Per deidrogenazione, la papaina

si trasforma in un enzima disolfurato inattivo. Questo processo d'ossidazione non è che una reazione d'equilibrio che si produce normalmente col tempo. La reazione è reversibile entro certi limiti, per cui è possibile riattivare una papaina ossidata mediante l'impiego di sostanze riducenti, quali cisteina, glutatione, tiosolfato di sodio, etc.

Agenti ossidanti (H_2O_2 , iodio, chinone, etc.)



Una papaina attivata da un agente riduttore può ugualmente decomporre i peptoni.

Le proprietà ossido-riduttive della papaina sono responsabili della grande sensibilità del fermento verso gli agenti ossidanti e le tracce di metalli pesanti, che provocano il blocco dei gruppi solfidrici.

La papaina esplica la sua attività entro limiti di pH abbastanza ampi e precisamente tra pH 3 e 8. È stato possibile determinare entro questi limiti di pH e per parecchi substrati, che l'attività proteolitica più intensa coincide con il punto isoelettrico della proteina esaminata.

Proteine

pH di massima attività proteolitica.

Caseina	5
Fibrina	7
Gelatina	5
Emoglobina	6,5-8,5
Ovoalbumina	4
Ovoalbumina denaturata	7-8
Peptone	5
Siero di sangue bovino	4-8
Sieroalbumina	5,7-5,9
Sieroglobulina	5

La proteolisi esercitata dalla papaina presenta certe caratteristiche particolari:

— ha la proprietà di idrolizzare un grandissimo numero di pro-

teine, per il fatto che la sua attività non è legata ad un determinato tipo di substrato proteico;

— la sua attività enzimatica si manifesta in una zona di pH abbastanza ampia. Si può quindi impiegare con successo la papaina tanto in un mezzo leggermente acido che neutro o debolmente alcalino;

— a confronto con altri fermenti, la papaina è una sostanza termostabile e le sue proprietà digestive possono essere utilizzate anche a temperature abbastanza alte.

Mogadiscio, Marzo 1960.

RENATO RAGAZZINI

RIASSUNTO. — L'A. illustra le condizioni in cui si svolge in Somalia la coltura della Papaia (*Carica papaya* L.), la tecnica della raccolta, dell'essiccamento e purificazione del lattice, da cui si estrae la papaina. Accenna poi alle utilizzazioni di quest'ultimo prodotto, ai metodi di determinazione dell'attività della papaina ed alle possibilità della sua produzione in Somalia.

SUMMARY. — The A. describes the grown conditions of *Carica papaya* L., the crop gathering and the way of drying and cleaning of the latex from which the papain is extracted. He hints here at the utilisation of this by product, at the methods of determination of the activity of papain and the possibility of its growing in Somalia.

LAVORI CONSULTATI

- HUET R. (1) — *Nature et propriétés de la papaine*. Fruits d'outre mer, 1956, vol. II, n. 2.
 MAUGINI A. — *La coltura della papaia e l'estrazione della papaina*. L'Agricoltura coloniale, n. 9, 1928.
 PRATOLONGO U. — *Chimica delle fermentazioni*. Hoepli, Milano, 1955, pag. 134.
 SMITH H.G. — *Papain. Its production and market*. Col. Plant. and animal prod., 1952, vol. 3^o, n. 1.
 TAUBER — *Chemistry and technology of enzymes*. New York, 1949.

(1) Una bibliografia particolarmente estesa è contenuta di seguito all'articolo.