

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCIX.

1912

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1912

RENDICONTI

DELLE SEDUTE

DELLA REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

MEMORIE E NOTE

DI SOCI O PRESENTATE DA SOCI

pervenute all'Accademia durante le ferie del 1912.

(Ogni Memoria o Nota porta a piè di pagina la data d'arrivo)

Chimica fisica. — *Sulla tensione superficiale delle soluzioni proteiche* ⁽¹⁾. Nota del CORRISP. FIL. BOTTAZZI ⁽²⁾.

Io ho avuto già occasione di criticare l'opinione di J. Traube ⁽³⁾, secondo cui l'albumina non è capace di abbassare in modo degno di nota la tensione superficiale dell'acqua. Ciò non ostante, Rona e Michaelis ⁽⁴⁾, ignorando quello che io ho pubblicato, non solo in lingua italiana ⁽⁵⁾ ma anche in tedesco ⁽⁶⁾, a questo riguardo, prendono l'affermazione di Traube come verità indiscussa, e su essa fondano alcune loro ricerche, che non è qui il caso di esaminare.

Alla tensione superficiale delle soluzioni proteiche Robertson consacra, nel suo recente libro ⁽⁷⁾, poche righe, e non cita le mie ricerche. Notizie

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia di Napoli.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 30 luglio 1912.

⁽³⁾ J. Traube, *Die osmotische Kraft*. Pflüger's Arch. f. Physiol., Bd. 123, pag. 419, 1908. A pag. 432, in nota, il Traube scrive: « Während Emulsionen... sowie das Eiweiss die Oberflächenspannung des Wassers fast gar nicht erniedrigen, erniedrigen Peptone und Albumosen dieselbe sehr stark... ».

⁽⁴⁾ P. Rona und L. Michaelis, *Beiträge zur allg. Eiweisschemie*, IV, Bioch. Zeit., Bd. 41, pag. 165, 1912.

⁽⁵⁾ Fil. Bottazzi, *Ricerche sopra soluzioni di colloidi organici*, Arch. di Fisiol., vol. VII, pag. 579, 1909.

⁽⁶⁾ Fil. Bottazzi, in *C. Neuberg's: Der Harn* ecc., pag. 1715, Berlin, 1911. Vedasi anche: *Kolloidchem. Beihefte*, Bd. III, pag. 165, 173 segg., 1912.

⁽⁷⁾ T. Brailsford Robertson, *Die physikalische Chemie der Proteine*, Dresden, 1912, pag. 306.

un poco più estese si trovano nell'opera di Wo. Ostwald⁽¹⁾, in quella di Freundlich⁽²⁾ e nel mio capitolo *Oberflächenspannung* (pp. 1714 e seg.), in *Der Harn* di C. Neuberg (loc. cit.), dove io giungo alla conclusione: « dass die Proteine im Zustand vollkommener Lösung die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen und dass die Erniedrigung in gewisser Weise ihrer Konzentration proportional ist ».

Dalle ricerche che finora hanno fatto gli autori che si trovano citati più comunemente nei libri sopra ricordati, risulta evidentemente che essi non si sono preoccupati di due cose importantissime: 1°) se le sostanze proteiche da loro usate erano pure; 2°) se esse erano in grado di dare una « soluzione », o se invece nei liquidi esaminati si trovavano allo stato di sospensione. Infatti, da una parte si sa che minime quantità di grassi o di altri corpi egualmente attivi bastano a produrre un forte abbassamento della tensione superficiale, e dall'altra è chiaro che le sostanze allo stato di sospensione anche microgranulare non modificano in modo degno di nota la tensione superficiale dell'acqua. Quindi, tutte le ricerche fatte sul siero di sangue o altri liquidi dell'organismo, e quelle fatte sopra sospensioni o soluzioni di caseina, che è sempre inquinata da grassi, sopra così dette « soluzioni » che però in realtà non sono che « sospensioni » di proteine ecc., più o meno inquinate da sostanze capaci di elevare o abbassare da sé sole la tensione superficiale dell'acqua; tutte queste ed altre somiglianti ricerche, dico, non hanno alcun valore per risolvere il problema che qui si discute.

Alcune delle presenti ricerche sono state fatte con caseina, per dimostrare appunto che questa proteina non è da scegliersi in esperimenti di tensione superficiale; le altre, invece, sono state fatte con sieralbumina e sieroglobulina purissime, servendomi del metodo stalagmometrico di Traube per svelare le variazioni di tensione superficiale: metodo che è comodissimo ed esattissimo, potendo bastare anche il solo numero delle gocce, senza determinare il peso specifico, quando si tratta di scoprire differenze notevoli di tensione superficiale in soluzioni relativamente molto diluite. Lo stalagmometro era immerso in un termostato ad acqua regolato alla temperatura di 28° C.

1. — ESPERIMENTI CON LA CASEINA.

a) La sospensione 2% di caseina Merck in acqua calda, mantenuta per più ore in agitazione, presenta un aspetto lattiginoso ed è abbastanza stabile. Viene riscaldata più volte a 70-80°, per evitare la putrefazione e per renderla più stabile.

(¹) Wo. Ostwald, *Grundr. d. Kolloidich.*, 2 Aufl. Dresden, 1911, pp. 225-226.

(²) H. Freundlich, *Capillarchemie*, Leipzig, 1909.

Stalagmometro Traube, in termostato a 28° C:

Acqua bidistillata	gocce n. 55
Sospensione di caseina M.	" " 74
La stessa sospensione, trattata con soluzione normale di NaOH fino a completa chiarificazione	" " 75 1/2

Altra sospensione di caseina M. 2%, dello stesso aspetto lattiginoso: gocce n. 72-73; 10 cm³ di essa + 2,1 cm³ sol. 0,1 n NaOH (quasi completa chiarificazione), gocce n. 74.

b) La sospensione 2% di caseina Kahlbaum (preparata secondo Hammarsten) in acqua bollente, è opaca, ma non lattiginosa. Si aggiunge soluz. norm. di NaOH fino a completa chiarificazione, e poi altro alcali in eccesso. Quindi si aggiungono al liquido, a intervalli di qualche giorno, quantità eguali di caseina in polvere, e si agita fortemente in un agitatore automatico. La caseina aggiunta, via via, sempre si scioglie, mentre il liquido diventa sempre più viscoso, e la sua reazione, prima fortemente alcalina alle carte, va man mano diminuendo, finchè da ultimo diventa acida. La quantità di caseina che si può in questo modo sciogliere nello stesso volume originale di acqua è incredibilmente grande. Si fanno le seguenti determinazioni successive dal numero di gocce, usando sempre lo stesso stalagmometro, a 28°:

Acqua distillata	gocce 55
Prima soluzione di caseina K.	" 71
Dopo l'aggiunta di altra caseina	" 75
Dopo altra aggiunta di caseina	" 77
Dopo la terza aggiunta di caseina (il liquido è molto viscoso: ogni goccia impiega 35" a staccarsi)	" 79
La stessa soluzione, dopo l'aggiunta di 2 cm ³ H ₂ O a 10 cm ³ di soluzione	" 76
La stessa soluzione, dopo l'aggiunta di 2 cm ³ soluz. 0,1 n NaOH	" 73-74
Soluz. 0,1 n NaOH	" 54-55

c) Caseina Kahlbaum (preparata secondo Hammarsten) lavata per molti giorni prima con etere etilico, poi con etere petrolico, indi disseccata.

Lo stesso stalagmometro Traube, alla temp. 28° C:

Acqua distillata	gocce 55
Sospensione della detta caseina K., circa 1 gr. in 50 cm ³ di acqua distillata; liquido torbido	" 60

La stessa sospensione + 6 gocce di soluz. *n* NaOH; la caseina si scioglie tutta, eccetto i granuli più grossi gocce 66
 La stessa soluzione di caseina + circa gr. 1,5 della caseina secca; dopo che si è sciolta " 75.

d) Soluzione molto concentrata di caseina Kahlbaum in soluzione di NaOH, limpida, molto viscosa, di reazione pressochè neutra, che allo stalgmometro di Traube dà, a 28°C, 79 gocce. Si mettono in 11 bicchierini 10 cm³ di detta soluzione, e quindi si aggiungono in ciascun bicchierino acqua e soluz. 0,1 *n* NaOH nelle seguenti proporzioni; di ciascun miscuglio si determina il numero delle gocce:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Cm ³ soluz. caseina . . .	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Cm ³ H ₂ O	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cm ³ soluz. 0,1 <i>n</i> NaOH	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
Gocce n.°	80 ³ / ₄	80 ¹ / ₂	80 ¹ / ₂	80 ¹ / ₄	79 ¹ / ₂	79	78	77	76 ¹ / ₂	76 ¹ / ₄	76

Da questi esperimenti risulta che:

1). La « caseina » Merk abbassa la tensione superficiale dell'acqua già allo stato di sospensione, cioè prima di aggiungervi l'alcali per sciogliere la proteina. Ciò dimostra che contiene impurità, cioè grassi del latte. La « caseina » Merk è più impura di quella Kahlbaum. Ma anche questa, non ostante un'estrazione prolungata con etere, abbassa di 5 gocce la tensione superficiale dell'acqua quando si trova allo stato di sospensione, il che può dipendere da tracce di sostanze grasse, o di sostanze proteiche solubili, in essa rimaste.

2). L'aggiunta di NaOH, per cui la sospensione di caseina si trasforma in soluzione, produce sempre un grande abbassamento della tensione superficiale (numero massimo di gocce: circa 81, cioè 26 gocce più dell'acqua distillata), anche quando l'esperimento è fatto con caseina Kahlbaum estratta con etere. L'abbassamento aumenta con l'aumentare della concentrazione della soluzione di caseina.

2. — ESPERIMENTI CON SIERALBUMINA.

a) Sospensione in acqua distillata di sieralbumina mista (1) di siero di sangue di bue e di siero di sangue di cane, dializzati per più mesi

(1) Come fu ottenuta questa sieralbumina dirò in un'altra Nota; provvisoriamente la chiamo « sieralbumina mista ».

(circa 7 mesi); è un liquido torbido; stalagmometro di Traube; temp. 28° C:

Acqua distillata	gocce	55
Sospensione di sieralbumina (media di 3 determ.)	"	60 1/2
10 cm ³ di questa sosp. + 1 cm ³ sol. 0,1 <i>n</i> Na OH	"	64 1/2

b) Altra sospensione della stessa « sieralbumina mista » di bue e di cane; lo stesso stalagmometro, alla temperatura di 14° C:

Acqua distillata	gocce	54 1/2
10 cm ³ della sospensione	"	64
La stessa sospens. + 10 gocce soluz. 0,1 <i>n</i> Na OH (il liquido si chiarifica in parte)	"	65 1/2
La stessa soluzione + 2 gocce soluz. <i>n</i> Na OH (il liquido si chiarifica perfettamente)	"	65 1/2

c) Soluzione mediocrementemente concentrata di sieralbumina di bue (siero di sangue di bue dializzato per più mesi e poi concentrato nel vuoto)

"	"	64 1/2
---	---	--------

d) La « sieralbumina mista » di bue e di cane viene lavata più volte successivamente con acqua distillata. Dopo ogni lavatura, si lascia depositare la sieralbumina che non si scioglie; e quando il liquido soprastante è divenuto limpido, come acqua, se ne decanta una porzione, e si determina il numero di gocce che dà allo stalagmometro Traube:

Acqua distillata	gocce	54 1/2
Primo liquido di lavatura della sieralbumina	"	62 1/2 - 63
Secondo " " " "	"	62 - 62 1/2
Terzo " " " "	"	62 - 62 1/2
Quarto " " " "	"	61 1/2 - 62

Il liquido di lavatura, sebbene abbia l'aspetto dell'acqua pura, trattato con alcool e altri reattivi, dimostra di contenere notevole quantità di proteina sciolta.

La « sieralbumina mista » non è, dunque, insolubile, ma poco solubile in acqua. La piccola quantità che se ne scioglie è già sufficiente a determinare un notevole abbassamento della tensione superficiale dell'acqua. A giudicare dal numero di gocce prossocchè eguale che dà ciascun liquido di lavatura, si può affermare che la quantità di « sieralbumina mista » che si è sciolta ciascuna volta è stata approssimativamente eguale. L'abbassamento della tensione superficiale che presenta la sospensione è, dunque, dovuto alla parte sciolta della sieralbumina.

La soluzione ordinaria di sieralbumina, che è poi il siero di sangue dializzato per breve tempo e liberato dal precipitato che si forma durante

la dialisi, non è nemmeno, secondo il mio modo di vedere, il liquido ideale per ricerche di questo genere, perchè, come si sa, il siero dializzato per breve tempo presenta sempre una certa tinta giallastra, tanto più intensa quanto maggiore è la concentrazione della sieralbumina e quanto più breve è stata la dialisi: tinta che dipende verosimilmente dal lipocromo del siero che durante le precipitazioni (anche quelle fatte con sali) rimane sempre legato alla frazione sieralbumina. Ora questa sostanza colorante potrebbe essere non inattiva sulla tensione superficiale. Il siero di sangue dializzato per parecchio tempo, invece, è incolore. Questo siero è una soluzione ottima di sieralbumina per ricerche di tensione superficiale.

Comunque sia, con la sieralbumina si raggiunge un aumento di non più di 10 gocce rispetto all'acqua, il che dipende dal fatto che io non potei fare (a causa della scarsità della « sieralbumina mista » precipitata) soluzioni molto concentrate di proteina in presenza di alcali. Tuttavia, essendo la sieralbumina perfettamente sciolta, come dimostra l'esame ultramicroscopico del liquido (che si presenta otticamente affatto omogeneo), non può dubitarsi che l'abbassamento osservato della tensione superficiale dell'acqua sia dovuto alla proteina.

3. — ESPERIMENTI CON SIEROGLOBULINA.

Globulina di siero di sangue di bue dializzato per molti mesi. Raccolta dai dializzatori, fu lavata sul filtro con acqua distillata abbondantemente; indi dissecata in una corrente d'aria calda, polverizzata, estratta con etere, conservata in essiccatore su cloruro di calcio. È una polvere fine, biancogrigiastra.

Si fanno con questa globulina i seguenti esperimenti:

a) Sospensione di globulina, finemente polverizzata, in acqua distillata. La sospensione è poco stabile.

Stalagmometro di Traube; temp. 28° C:

Acqua distillata	gocce	55
Sospensione di globulina in acqua distillata	"	56 1/2
Soluzione della stessa globulina in soluz. <i>n</i> di Na OH (reaz. fortemente alcalina)	"	66 1/2
Si filtra la sospensione di globulina; al filtrato si aggiungono 5 gocce di soluz. <i>n</i> Na OH (reaz. for- temente alcalina)	"	55 1/2

L'esperimento dimostra che la globulina non abbandona all'acqua sostanze che per sè stesse o per l'aggiunta di NaOH abbassino la tensione superficiale; mentre l'aggiunta di NaOH alla sospensione, determinando la

soluzione della proteina pura, produce un notevole abbassamento della tensione superficiale.

b) Sospensione di globulina, finemente polverizzata, in acqua distillata. Si mette nell'acqua una quantità grande di globulina per poterne determinare gradatamente la soluzione (nel termostato, a 28° C) mediante più aggiunte successive di soluz. *n* Na OH.

Acqua distillata	gocce	55
Sospensione di globulina in acqua, dopo aver lasciato che ne sedimentasse l'eccesso	"	56 1/2
La stessa sospensione, dopo aver aggiunto 5 gocce di soluz. <i>n</i> Na OH (si lascia 24 ore nel termostato, agitando spesso); dopo sedimentazione dell'eccesso di globulina (rigonfiata ma non sciolta)	"	63 1/2
La stessa, dopo aggiunta di dieci gocce soluz. <i>n</i> Na OH (24 ore in termostato, agitando); più globulina si è sciolta, ma non tutta	"	71 1/2
La stessa, dopo aggiunta di altre dieci gocce soluz. <i>n</i> Na OH; la soluzione ha un colore giallo-bruno; rimane ancora un poco di globulina non sciolta	"	75 1/2

Questo esperimento dimostra il progressivo diminuire della tensione superficiale coll'aumentare della concentrazione della globulina sciolta.

c) La soluzione alcalina di globulina, piuttosto concentrata, dell'esperimento precedente, filtrata; è limpidissima, molto viscosa. Si prendono due porzioni di 20 cm³ l'una, si mettono in due bicchierini, e all'una si aggiunge a gocce acqua distillata, mentre all'altra si aggiunge anche a gocce soluz. *n* HCl.

A			B		
20 cm ³ soluz. globulina + HCl <i>n</i>			20 cm ³ soluz. globulina + H ₂ O		
Gocce HCl <i>n</i> aggiunte	Gocce allo stalagmometro (30° C)	Osservazioni	Gocce H ₂ O aggiunte	Gocce allo stalagmometro	Osservazioni
1	75 1/4 - 74 3/4	Limpida	1	75 - 75 1/4	
1	75 1/4 - 75	Meno limpida	1	75 - 75 1/4	
1	75 1/4 - 75	"	1	"	
1	75 1/2 - 75 1/4	"	1	"	
1	75 1/4 - 75 1/2	Un poco torbida	1	"	
1	75 1/4 - 75 1/2	Più torbida	1	"	
1	75 1/4 - 75 1/4	"	1	75 1/2 - 75 1/4	
1	75 3/4 - 75 1/4	"	1	"	
1	75 1/2 - 75 1/2	"	1	"	
1	75 - 75	Sempre più torbida	1	"	
1	75 1/2 - 75 1/4	"	1	"	
1	75 1/4 - 75	"	1	75 1/2 - 75	
1	75 3/4 - 75	"	1	"	
1	74 3/4 - 75	"	1	"	
1	74 1/4 - 74	Molto torbida	1	"	
1	74 - 73 1/4	Precipitato	1	75 - 75	
1	73 3/4 - 73 1/2	"	1	75 - 75 1/4	

Peso specifico: 1,0153

Peso specifico: 1,0106

Come si vede, la diluizione con acqua della soluzione alcalina di globulina non ne modifica affatto la tensione superficiale, a causa dell'eccessiva concentrazione della soluzione. L'aggiunta di acido cloridrico provoca una piccola variazione della tensione superficiale, probabilmente per la stessa causa.

d) Per mettere in rilievo, meglio che non sia stato fatto nelle esperienze precedenti, l'influenza della concentrazione della proteina sulla tensione superficiale della soluzione, si prendono 4 soluzioni variamente concentrate di NaOH, e in ciascuna di esse si aggiungono quantità note crescenti di globulina, determinandone la perfetta soluzione e poi contando ogni volta il numero delle gocce allo stalagmometro.

I risultati sono raccolti nella seguente tabella I e graficamente rappresentati nella fig. 1, dove le quattro curve corrispondono alle quattro soluzioni di NaOH.

Da essi risulta evidentemente che *la tensione superficiale della soluzione diminuisce coll'aumentare della concentrazione della proteina sciolta in ciascuna delle 4 soluzioni di NaOH.*

TABELLA I.

CONCENTRAZIONE COSTANTE Na OH = 1,064 mol p/Lit.		CONCENTRAZIONE COSTANTE Na OH = 1,532 mol p/Lit.		CONCENTRAZIONE COSTANTE Na OH = 0,266 mol p/Lit.		CONCENTRAZIONE COSTANTE Na OH = 0,0532 mol p/Lit.	
Grammi di globulina in 100 cmc. soluzione	Numero delle gocce	Grammi di globulina in 100 cmc. soluzione	Numero delle gocce	Grammi di globulina in 100 cmc. soluzione	Numero delle gocce	Grammi di globulina in 100 cmc. soluzione	Numero delle gocce
0,000	55 ³ / ₁₀	0,0000	54 ⁹ / ₁₀	0,000	54 ¹ / ₂	0,000	53 ⁴ / ₅
0,018	62 ³ / ₈	0,0014	54 ⁹ / ₁₀	0,041	60 ² / ₅	0,011	55
0,033	64 ¹ / ₈	0,0043	55 ⁴ / ₅	0,075	61 ⁶ / ₅	0,033	56 ² / ₅
0,052	65 ¹ / ₈	0,0085	57 ¹ / ₅	0,128	63 ¹ / ₄	0,061	57 ⁰ / ₅
0,066	66	0,0113	58 ³ / ₁₀	0,199	64 ³ / ₄	0,094	58 ⁰ / ₅
0,093	67 ¹ / ₄	0,0141	59	0,289	66 ¹ / ₂	0,117	59
0,116	68 ⁴ / ₇	0,0183	59, ³ / ₄	0,355	67	0,156	59 ⁵ / ₈
0,232	71 ⁰ / ₇	0,0279	61	0,448	68	0,233	61
0,465	75 ⁰ / ₇	0,0470	62 ⁷ / ₈	0,555	69 ¹ / ₂	0,292	61 ⁵ / ₈
0,581	76 ⁵ / ₇	0,0650	64	0,729	70 ⁵ / ₇	0,333	62 ¹ / ₄
0,664	77 ³ / ₇	0,1055	65	1,059	72 ³ / ₇	0,389	63
0,775	78 ² / ₇	0,141	66	1,295	73	0,466	63 ³ / ₄
0,930	79	0,264	69	1,663	74 ¹ / ₇	—	—
—	—	0,325	69 ⁵ / ₈	1,942	74 ⁰ / ₇	—	—
—	—	0,423	70 ⁵ / ₇	2,332	76 ² / ₇	—	—
—	—	0,528	71 ⁵ / ₇	—	—	—	—
—	—	0,603	72 ³ / ₇	—	—	—	—
—	—	0,704	73 ² / ₇	—	—	—	—
—	—	0,845	74 ⁴ / ₇	—	—	—	—
—	—	1,055	75 ³ / ₇	—	—	—	—
—	—	1,210	75 ⁰ / ₇	—	—	—	—
—	—	1,410	76 ³ / ₇	—	—	—	—
—	—	1,690	77 ² / ₇	—	—	—	—

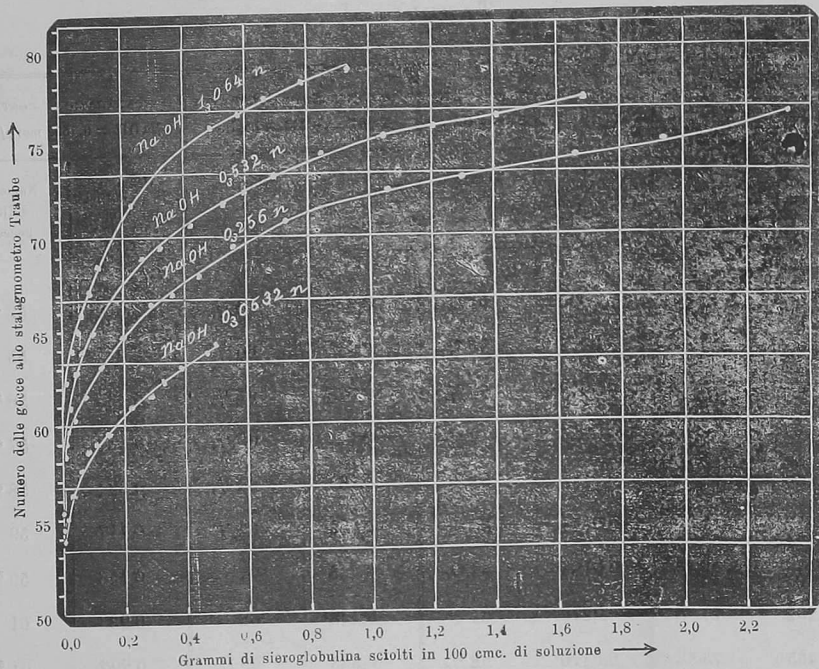


FIG. 1.

È noto che in presenza di acidi o di alcali le proteine formano combinazioni saline le quali sono in certo grado dissociabili, con formazione di ioni colloidali, e che il grado di dissociazione, e quindi il rapporto fra il numero delle molecole saline non dissociate e il numero degli ioni, può variare sotto l'influenza di vari agenti e di varie condizioni. Ora, le proprietà chimico-fisiche delle soluzioni proteiche pure, p. es. la viscosità, variano col variare del grado di dissociazione del sale di proteina.

Si verifica qualche cosa di analogo, per quanto riguarda la tensione superficiale; cioè, varia essa, e in che senso, col variare della dissociazione delle combinazioni saline delle sostanze proteiche?

Dalle ricerche che ho fatte finora, a questo proposito, insieme col mio assistente dott. E. D'Agostino, e che saranno pubblicate in una Nota successiva, risulta evidentemente che esiste una differenza profonda, circa il potere di deprimere la tensione superficiale dell'acqua, fra la proteina pura o i sali non dissociati di essa, da una parte, e i prodotti di dissociazione di questi; così che noi potremo dare una risposta precisa al problema dianzi enunciato.