

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXI.

1914

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1914

TABELLA III.

	Su 100 parti di azoto totale			
	Muscoli bianchi		Muscoli rossi	
	Azoto proteico	Azoto estrattivo	Azoto proteico	Azoto estrattivo
Tacchino 1	85,9	14,1	90,4	9,6
" 2	86,4	13,6	90,6	9,4
Gallo 1	86,4	13,6	90,5	9,5
" 2	87,8	12,2	90,6	9,4
Coniglio 1	85,2	14,8	87,4	12,6

Chimica-fisica. — *Ricerche chimico-fisiche sui liquidi animali.*
 Nota IX: *Sulla curva di forza neutralizzatrice dell'urina* ⁽¹⁾, di
 G. QUAGLIARIELLO ed E. D'AGOSTINO, presentata dal Corrispondente
 F. BOTTAZZI.

In un lavoro precedente ⁽²⁾, fatto in questo Laboratorio da uno di noi, veniva dimostrato che l'urina, fra le reazioni corrispondenti a una concentrazione di 2×10^{-4} e 1×10^{-3} d'idrogenione in gr. eq. per litro, presenta una forza neutralizzatrice notevolmente superiore a quella teoricamente calcolabile dalla somma delle forze neutralizzatrici delle sostanze che la costituiscono. Dopo che in un altro lavoro consecutivo ⁽³⁾ è stato da noi fissato il valore teorico delle curve di forza neutralizzatrice per soluzioni di sostanze semplici, interessava esaminare tale curva anche per l'urina, per potere stabilire con precisione la natura e la grandezza della divergenza fra la curva teorica e la curva sperimentale. D'altra parte, ad evitare calcoli assai laboriosi e complicati abbiamo creduto opportuno, tracciare la curva di forza neutralizzatrice di un'urina artificiale, vale a dire di una soluzione in acqua distillata dei principali componenti dell'urina.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto fisiologico della R. Università di Napoli.

⁽²⁾ G. Quagliariello, *Ricerche chimico-fisiche sui liquidi animali.* Nota 8^a: *Sulla reazione chimica dell'urina*, in Rend. R. Acc. Lincei (5), vol. 20 (1911), pag. 659.

⁽³⁾ E. d'Agostino e G. Quagliariello, *Sulla applicazione delle curve di forza neutralizzatrice alla determinazione della grandezza molecolare ecc.*, Nernst-Festschrift, 1912, e Arch. ital. de biologie, tom. 58 (1912), pag. 115.

Per tracciare la curva neutralizzatrice dell'orina, abbiamo proceduto nel seguente modo: L'orina, appena emessa da un individuo sano, veniva raccolta in una boccia, che mediante un sifone era connessa con una buretta graduata. Col metodo degli indicatori, e mediante il dispositivo già descritto in un altro lavoro (1), se ne determinava la reazione (concentrazione degli H⁺).

Ricordiamo che il metodo consiste nel paragonare il colorito, che prende l'orina, con quello che prende una soluzione campione il cui contenuto in idrogenione sia ben noto, in presenza della stessa quantità dello stesso indicatore. L'errore, che deriverebbe dal colorito proprio dell'orina, viene eliminato mediante il principio della sovrapposizione dei colori. Le soluzioni campioni da noi adoperate furono quelle consigliate dal Sørensen (2). Esse erano preparate in modo che la differenza fra i valori p_{H^+} di due soluzioni successive era di 0,1, e che era quasi sempre possibile di apprezzare approssimativamente il centesimo (p_{H^+} esprime il logaritmo negativo della concentrazione degli idrogenioni. Ad es., $p_{H^+} = 6,04$ vuol dire che il logaritmo della concentrazione degli idrogenioni è $-6,04$). In quanto agli indicatori adoperati, essi variarono con la zona di reazione esplorata, come appare dai dati analitici, che verranno appresso esposti.

Dopo avere con tale metodo determinata la concentrazione degli idrogenioni dell'orina normale, si determinava quella dell'orina in vario grado acidificata o alcalinizzata mediante aggiunta di un volume noto di HCl o di NaOH 0,1 n. Perchè queste aggiunte non apportassero alcuna modificazione nella concentrazione dell'orina investigata, nell'ambito della stessa ricerca, l'orina venne in ogni caso diluita a metà: e precisamente 5 cc. vennero portati al volume di 10, mediante aggiunta di esclusiva acqua distillata (orina normale), o di HCl + H₂O, o di NaOH + H₂O.

L'orina artificiale venne da noi preparata sciogliendo in acqua distillata le seguenti sostanze, e portando tutto al volume d'un litro:

Na ₂ HPO ₄ + 2 H ₂ O gr.	4,18	NaOH	1 n.	cc. 121,40
KCl	" 1,74	HCl	1 n.	cc. 109
CaCl ₂	" 1,44	Urato solico	gr.	0,596
MgSO ₄ + 7 H ₂ O	" 2,04	Urea	"	20.
H ₂ SO ₄ 1 n.	cc. 17,44			

Tale composizione è stata detratta dai dati del Meyer (3). Rispetto alla composizione media dell'orina indicata dal Meyer, questa soluzione (il cui peso specifico a 15° è 1.025) ha un maggior contenuto di HCl di mol. 0.084.

(1) G. Quagliariello u. E. d'Agostino, *Verwendung der Indicatorenmethode beim Studium der Harnreaktion u. s. w.*, Deut. Medizin. Wochenschr., n. 46, an. 1912.

(2) Biochem. Zeitschr., Bd. 21 (1909), pag. 131.

(3) *Allg. Untersuchungen des Harns*, in Neuberg's Handbuch, Der Harn usw., pag. 4, an. 1911.

Ciò per la necessità di conferire alla soluzione stessa una reazione leggermente acida, ed evitare così la precipitazione dei fosfati. È notevole infatti che in questa urina artificiale è sufficiente una lieve alcalinità ($p_H = 6,5$) perchè i sali precipitino.

Nella nostra soluzione, inoltre, mancano l'acido ippurico e la creatinina, oltre ad altre sostanze organiche che, pure essendo contenute in traccia nell'urina, costituiscono, nell'insieme, più di 1 gr. ‰ di sostanza. Ma, come appresso diremo, noi non crediamo che tali sostanze possano avere una grande importanza, per la forza neutralizzatrice dell'urina.

Nella tabella 1^a sono esposte alcune delle misure da noi eseguite in urine normali, e sull'urina artificiale. Tutti questi dati sono messi in grafica nella figura 1^a, segnando sulle ascisse il logaritmo della concentrazione degli idrogenioni (p_H), e sulle ordinate la quantità in millimol di alcali o di acido aggiunto. Nella figura 2^a, infine, è messa in grafica colle stesse modalità, e sulla identica scala, la forza neutralizzatrice d'una soluzione di fosfato acido di potassio (KH_2PO_4) 0,05 mol. per litro, corrispondente approssimativamente alla concentrazione media dell'acido fosforico nell'urina. I dati sperimentali con i quali fu costruita tale curva, sono esposti nella tabella 2^a.

TABELLA I.

INDICATORE	Liquido campione	Millimol HCl aggiunte a 1 l. d'orina	$p_{H'}$	INDICATORE	Liquido campione	Millimol NaOH aggiunte a 1 l. d'orina	$p_{H'}$
<i>Orina normale 1^a.</i>							
Paranitrofenolo	Miscela di fosfati	0	5,75	Paranitrofenolo	Miscela di fosfati	0	5,75
"	"	4	5,50	"	"	5	5,95
"	"	8	5,30	"	"	10	6,27
"	"	12	5,10	"	"	15	6,38
Metil-arancio	Citrato + HCl	23	4,50	"	"	20	6,40
"	"	31	3,84	"	"	25	6,70
"	"	35	3,60	"	"	35	6,88
"	"	39	3,35	"	"	38	7,05
"	"	48	3,15				
<i>Orina normale 2^a.</i>							
Paranitrofenolo	Miscela di fosfati	0	5,45	Paranitrofenolo	Miscela di fosfati	0	5,45
"	"	5,5	5,30	"	"	2,4	5,56
"	"	8,0	5,21	"	"	4,8	5,61
"	"	10,7	5,10	"	"	7,2	5,71
"	"	15,1	5,05	"	"	9,6	5,82
Rosso metile	Citrato + HCl	22	4,70	"	"	12	5,92
"	"	25,3	4,62	"	"	18	6,12
"	"	28,7	4,52	"	"	21	6,15
Metil-arancio	"	33	4,45	"	"	24	6,22
"	"	36	4,33	"	"	27	6,32
"	"	40	4,25	"	"	30	6,44
"	"	44	4,10	"	"	33	6,54
"	"	48	3,95	"	"	36	6,67
"	"	52	3,82	"	"	39	6,72
"	"	56	3,68	"	"	42	6,80
"	"	60	3,53	"	"	45	6,96
"	"	64	3,42				
"	"	68	3,25				
"	"	72	3,12				
<i>Orina artificiale.</i>							
Paranitrofenolo	Miscela di fosfati	0	5,55	Paranitrofenolo	Miscela di fosfati	0	5,55
"	"	0,7	5,46	"	"	0,7	5,65
"	"	1,4	5,33	"	"	1,4	5,74
"	"	2,1	5,20	"	"	2,1	5,80
Rosso metile	Citr. + NaOH	2,1	5,10	"	"	2,8	5,85
"	" + HCl	2,5	4,90	"	"	3,5	5,90
"	"	2,9	4,85	"	"	4,2	5,92
"	"	3,3	4,65	"	"	4,9	5,98
"	"	3,7	4,45	"	"	9,9	6,15
"	"	4,1	4,20	"	"	15,9	6,30
Metil-arancio	"	4,1	4,17	"	"	25,9	6,65
"	"	4,6	3,88				
"	"	5,1	3,68				
"	"	5,6	3,55				
"	"	6,1	3,42				
"	"	6,6	3,32				
"	"	7,1	3,25				
"	"	7,6	3,18				

La formazione di precipitato impedisce le misure nelle zone più alcaline.

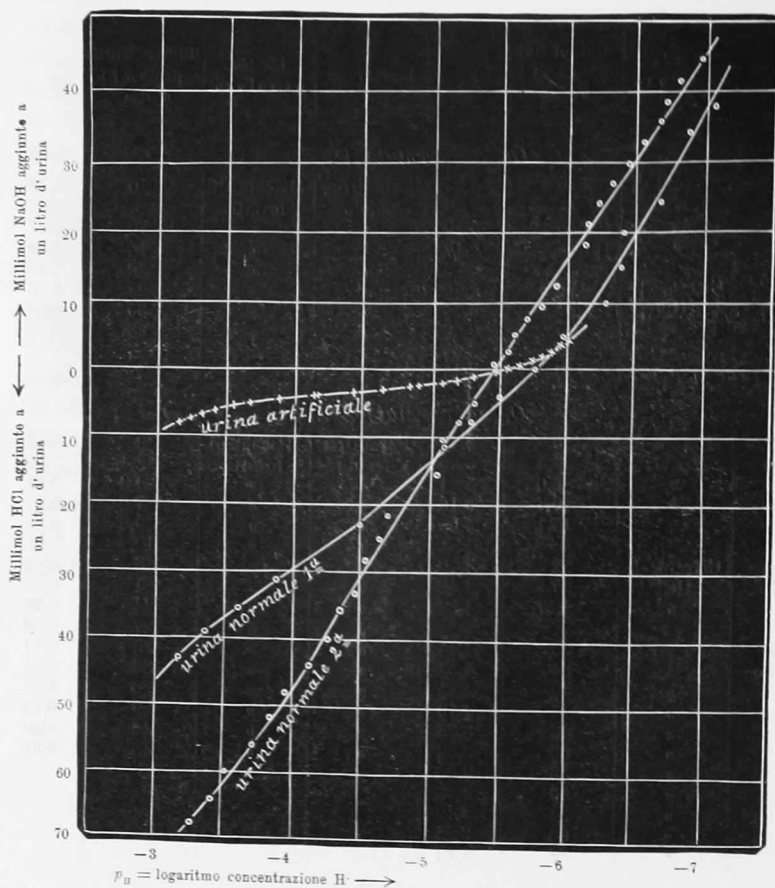
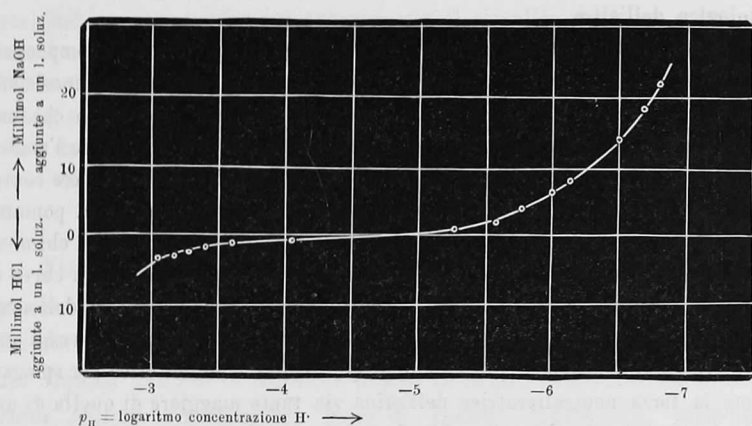


TABELLA II.

Soluzione 0,05 mol. KH₂PO₄

INDICATORE	Liquido campione	Millimol HCl aggiunte a 1 l. di soluzione	p _H '	INDICATORE	Liquido campione	Millimol KaOH aggiunte a 1 l. di soluzione	p _H '
Metil-arancio	Citrato HCl +	0,6	4,05	Paranitro-fenolo	Miscela di fosfati	1,0	5,28
"	"	1,2	3,60	"	"	2,0	5,58
"	"	1,8	3,40	"	"	4,0	5,78
"	"	2,5	3,30	"	"	6,0	6,00
"	"	3,1	3,20	"	"	8,05	6,15
"	"	3,8	3,05	"	"	14,05	6,50
"	"	4,1	3,05	"	"	18,1	6,70
				"	"	22,1	6,80



Uno sguardo alla figura 1^a mostra subito l'enorme differenza che passa tra la curva di forza neutralizzatrice delle urine fisiologiche e la curva di forza neutralizzatrice dell'urina artificiale.

A destra di $p_{H.} = 6$, le curve sono quasi parallele: il che vuol dire che da quel punto, per eguali aggiunte di alcali e di acidi, i liquidi subiscono le stesse variazioni di reazione; ma a sinistra di $p_{H.} = 6$, le curve divergono sensibilmente, e precisamente la forza neutralizzatrice dell'urina artificiale è notevolmente più piccola di quella dell'urina fisiologica. Se si paragona inoltre la figura 1^a con la 2^a, subito si osserva che la curva dell'urina artificiale somiglia moltissimo quella dell'acido fosforico. E adottando le espressioni già da noi adottate nel precedente lavoro (¹), diremo che la curva dell'urina artificiale presenta un deciso punto stechiometrico in corrispondenza di $p_{H.} = 4,40$, punto assai poco differente da quello che presenta l'acido fosforico ($p_{H.} =$ circa 4,70), come rilevasi dalla fig. 2^a. La curva dell'urina 1^a, invece, presenta appena un accenno di punto stechiometrico verso $p_{H.} = 4,5$; non ne presenta neppure traccia la curva dell'urina 2^a.

Come si possono spiegare tali differenze? Secondo a noi sembra, due sono le spiegazioni possibili:

1°) L'urina normale contiene in soluzione tutti i componenti fissati dalla analisi chimica, e che sono contenuti anche nella urina artificiale: ma essa contiene pure, oltre all'acido ippurico e alla creatinina, altre sostanze organiche poco note, sopra tutto dal punto di vista chimico-fisico, nella concentrazione complessiva di oltre l'1 ‰; ora, potrebbero appunto a tali sostanze essere imputate le differenze osservate nella curva di forza neutra-

(¹) Nernst-Festschrift, loc. cit.

lizzatrice dell'urina artificiale e dell'acido fosforico da una parte, e dell'urina fisiologica dall'altra.

2°) L'urina non conterrebbe in soluzione tutti preformati i componenti fissati dalla analisi chimica: in altre parole, l'urina avrebbe una composizione alquanto differente da quella ordinariamente ammessa, nel senso che non tutti i componenti si trovano in essa isolati e distinti quali soltanto l'analisi è in grado di svelarli. Ad esempio, l'acido fosforico potrebbe non essere contenuto come tale nell'urina, ma combinato con qualche altra sostanza, poniamo con l'acido urico. Ne risulterebbe un nuovo corpo, le cui costanti chimico-fisiche sarebbero differenti da quelle dell'acido fosforico, ed allora la curva di forza neutralizzatrice deve essere naturalmente diversa da quella dell'acido fosforico. Basterebbe infatti ammettere che questo nuovo acido avesse una costante di dissociazione più debole di quella dell'acido fosforico per spiegare come la forza neutralizzatrice dell'urina sia tanto maggiore di quella di una soluzione equimolecolare di acido fosforico.

Per la prima ipotesi non vi è alcuna difficoltà ad ammettere che le sostanze organiche dell'urina, ancora poco note, siano degli elettroliti deboli con caratteri acidi, basici o anfoteri, tali da modificare la forza neutralizzatrice dell'urina stessa nel dominio di reazione esaminato. Ma quello che è più difficile ad ammettere è che esse possano produrre effetti tanto notevoli, data la loro concentrazione e tenuto anche conto che si tratta di sostanze il cui peso molecolare è piuttosto elevato (es. aminoacidi, acidi grassi ecc.).

Contro la seconda ipotesi, invece, noi non vediamo alcuna obiezione grave. Anzi, a favore di essa, e, più precisamente, dell'esempio da noi scelto, si possono fare varie osservazioni: 1°) È nota la facilità con cui l'acido fosforico si combina con alcune sostanze organiche, specie azotate, per formare acidi complessi, la cui costante di dissociazione è, in generale, più debole di quella dell'acido fosforico (es. acido amido-fosforico) (1). 2°) Noi non sappiamo ancora in quale stato l'acido urico si trova nell'urina, chè tutte le ricerche fin'oggi eseguite mostrano che la sua concentrazione in questo liquido dell'organismo supera sensibilmente quella consentita dai limiti di solubilità dei suoi sali, specie in presenza di Na Cl (2). 3°) Dalle nostre ricerche risulta che i fosfati, nell'urina artificiale, sono molto più facilmente precipitabili che non nell'urina fisiologica. Basta infatti una reazione neutra o debolissimamente alcalina, per provocarne la precipitazione. Ciò potrebbe trovare la sua spiegazione appunto nel fatto che nell'urina fisiologica l'acido fosforico, in tutto o in parte, non si trova come tale in soluzione, mentre come tale si trova

(1) Vedi, a questo proposito, Schenk, *Phosphor*, in Abegg's *Anorg. Chem.*, Bd. 3, Abth. 3, pag. 463, an. 1907.

(2) E. D'Agostino, *Influenza di solubilità esplicata dal cloruro sodico sull'urato monosodico*. Rend. Soc. chim. italiana (2), vol. 2°, fasc. 6, an. 1910.

indubbiamente nell'orina artificiale, essendo chiaro che la formazione di un qualsiasi complesso non può avvenire per il semplice contatto, a temperatura ambiente, delle due sostanze. 4°) Ricordiamo, infine, che gran parte dell'acido fosforico ha la stessa origine dell'acido urico: le nucleine. Naturalmente, non tutto l'acido fosforico dovrebbe essere combinato, e dalle variazioni della percentuale libera dipenderebbero sopra tutto le differenze fra le varie urine.

Fisiologia. — *Sull'adattamento degli Anfibi all'ambiente liquido esterno, mediante la regolazione della pressione osmotica dei loro liquidi interni: III. Proprietà chimiche e fisico-chimiche dei liquidi interni di animali tenuti in acqua distillata ed in soluzioni Ringer ipertoniche.* Nota di BRUNO BRUNACCI, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Nelle due Note precedenti ho riferito i risultati delle esperienze relative al limite massimo di adattamento, ed i fenomeni constatabili ad una semplice osservazione. Riferisco ora i dati analitici chimici e fisico-chimici relativi al sangue, alla linfa dei sacchi ed all'urina di animali tenuti in acqua distillata ed in soluzioni Ringer ipertoniche, dopo aver soggiornato — come si disse — in acqua di condotta fino a depurazione.

Su i vari liquidi raccolti — come pure sul liquido ambiente — vennero determinati il Δ col Beckmann e la resistenza elettrica a 22° C. al Ponte di Kohlrausch.

Per il sangue si fecero queste determinazioni dapprima sul sangue *in toto* dopo defibrinazione; e successivamente sul siero dello stesso, ottenuto mediante centrifugazione (20' con centrifuga elettrica a 3000 giri al 1'). Tanto sul siero di sangue, quanto sulla linfa dei sacchi defibrinata, si determinarono inoltre il residuo secco a 110° C., le ceneri, e l'N totale col metodo Kjeldahl.

Le esperienze sono state divise nelle serie seguenti: **SERIE A:** *Rane escul. estive tenute in acqua distillata.* — **SERIE B:** *Rane esculente estive tenute per un breve periodo di tempo in soluzione Ringer ipertonica massima.* — **SERIE C:** *Rane esculente estive tenute per un breve periodo di tempo in soluzione Ringer ipertonica ultramassima.* — **SERIE D:** *Rane esculente estive tenute per un lungo periodo di tempo in soluzione Ringer ipertonica: a) soluzione leggermente ipertonica; b) soluzione più ipertonica.*

I risultati delle analisi sono riportati nelle annesse tabelle.

Riserbando la discussione di essi nel riassunto generale critico che seguirà l'esposizione di tutti i dati sperimentali, mi limito ora alla loro semplice esposizione.