
G. BOZZA

La chimica e la fisica delle macromolecole organiche

SUNTO — Dopo aver richiamato l'importanza, dai punti di vista scientifico puro, biologico e tecnologico, dello studio delle grandi molecole organiche, si distinguono i pesi molecolari chimici e fisici e si discutono criticamente i diversi metodi di indagine sulle grandi molecole: dapprima mostrando le relazioni fra le proprietà macroscopiche, il peso molecolare e la forma molecolare, poi descrivendo i singoli metodi chimici e fisici, con le loro limitazioni e i loro vantaggi.

Vengono riportati i risultati principali ottenuti nei più svariati campi nei quali intervengono macromolecole organiche; infine sono accennati i metodi di indagine sugli aggregati molecolari allo stato solido e sulle loro strutture nei diversi casi.

Il problema della costituzione delle grosse molecole organiche, unito a quello della loro grandezza effettiva, è una delle più gravi e difficili questioni generali che presenti l'indagine della natura. Non bisogna difatti dimenticare che a molecole palesemente assai grandi sono legati i fenomeni vitali, e che in tutti gli organismi animali e vegetali l'accrescimento, la nutrizione, ci appaiono avvenire insieme alla formazione, alla modificazione, alla distruzione di grossi aggruppamenti organici aventi specifiche e caratteristiche proprietà.

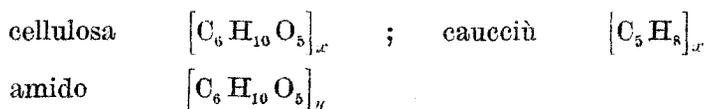
Nè d'altra parte bisogna ritenere che tali questioni abbiano soltanto un puro interesse di indagine scientifica, per la possibile spiegazione o interpretazione di fenomeni molto complessi: innanzi tutto un'interpretazione fondata su dati di fatto può sempre aprire la via a progressi grandissimi in direzioni anche dapprima impensate; ma inoltre lo studio delle grosse molecole si presenta essenziale anche per molte tecnologie, in quanto la corretta visione del materiale che viene

lavorato permette modificazioni al processo di lavorazione eseguite non a caso, ma con un preciso scopo, e quindi un rapido progresso nella direzione prescelta: basti a questo proposito portare l'esempio della immensa massa di ricerche eseguite sulla cellulosa e dei progressi che si incominciano a fare nella tecnologia delle fibre artificiali in base ad esse.

A parte l'importanza pratica dell'indagine sulla costituzione delle grosse molecole organiche, la conoscenza sia pure incompleta dei complessi sopporti organici sui quali si appoggia la vita degli organismi, la visione della loro specifica complessità da un lato, della loro generica semplicità dall'altro, possono, per ciascuno che dedichi in po' di tempo alla meditazione, fare apparire il ben fisso telaio sul quale, con una continua mutevolezza, si svolge la tela misteriosa della vita.

Fin dal principio degli studi di chimica organica i chimici si accorsero che, accanto alle specie chimiche caratterizzate da una grandezza molecolare facilmente determinabile perchè piccola e quindi accessibile ai più semplici metodi di misura, ne esistevano altre per le quali i caratteri di insolubilità, di infusibilità, di non volatilità denunziavano un edificio molto grande, molto più grande di quel che la semplice analisi chimica poteva suggerire.

Nell'impossibilità di riuscire a definire tale edificio, queste numerose sostanze rimasero per un bel pezzo trascurate nello studio costitutivo (e d'altra parte c'era da studiare allora l'immenso numero di quelle della prima categoria), e spesso l'ignoranza in proposito era svelata e nello stesso tempo nascosta dal modo di scriverne la formula, con una parentesi accompagnata da un misterioso indice:



Ma il progresso dei metodi di ricerca, l'affinarsi della tecnica chimica e chimico-fisica, il successivo sviluppo delle conoscenze in questi difficili argomenti, conoscenze che davano spunto a nuovi sviluppi, hanno ormai permesso di riunire una massa di dati, aventi attinenza con campi svariatissimi, e in molti casi hanno già dato la descrizione della costituzione interna così misteriosamente nascosta dalla parentesi quadra e dall'indice di polimerizzazione.

Si vedrà in seguito come la concordanza di risultati ottenuti con metodi diversissimi dia in molti casi una ragionevole sicurezza rispetto a schemi strutturali che si possono perciò ritenere quasi definitivi.

Prima di tutto conviene fare alcune considerazioni circa il significato delle espressioni *molecola* e *peso molecolare*. Premesso che è necessaria la conoscenza di una certa sostanza *allo stato puro* per poterne definire la molecola (si vedrà più avanti il significato di questa pregiudiziale e la sua importanza per il problema che ci interessa) si possono assumere due diverse definizioni della *molecola*, a seconda del punto di vista fisico o chimico che si prende per l'esame:

— peso molecolare di una sostanza in *senso fisico* è il peso, riferito a O preso come 16, della più piccola particella della sostanza stessa avente possibilità di esistenza in istato gassoso o in soluzione. Evidentemente esula da questa definizione qualunque ipotesi o definizione circa l'interna costituzione della particella. Il peso molecolare in senso fisico, o peso di particella, viene determinato con mezzi fisici che permettono di *numerare* le particelle o di *pesarle*, come vedremo in seguito.

— peso molecolare di una sostanza in *senso chimico*, per lo meno nella chimica organica che qui ci occupa, è la somma dei pesi, riferiti a O preso come 16, di quegli atomi che sono riuniti in un individuo per mezzo di valenze principali; oppure il peso, sempre riferito all'ossigeno, della più piccola porzione in cui può essere suddiviso il corpo senza alterarne le proprietà chimiche caratteristiche (la porzione è, in tal caso, quella che DUMAS chiamava atomo relativo alle forze fisiche). Il peso molecolare in senso chimico è quello che i chimici organici generalmente considerano nelle loro formule, e può essere determinato solo con metodi chimici, di demolizione o di sintesi, di determinazione di gruppi caratteristici o terminali.

Poichè nel caso del peso molecolare fisico si tratta di determinazioni in gas o in soluzioni, e nel caso del peso chimico si deve passare attraverso operazioni chimiche che avvengono generalmente in soluzione, non abbiamo nessun modo di determinare il peso molecolare allo stato solido, per il quale non si può che assumere la definizione di peso molecolare in senso chimico. L'unico metodo di investigazione allo stato solido, l'analisi con i raggi X, permette in qualche caso la determinazione di pesi molecolari, ma assai spesso può condurre a interpretazioni errate.

Bisogna ben tenere presente la differenza fra i due pesi molecolari fisico e chimico, per non cadere in interpretazioni false e in equivoci ineresciosi. Perchè assai spesso i due pesi molecolari non coincidono: questa del resto è una cosa nota nella chimica fisica: i sali inorganici, che si dissociano elettroliticamente, dimostrano pesi molecolari ebullioscopici e crioscopici nettamente inferiori ai pesi chimici, appunto in vista della dissociazione, mentre acidi grassi ed alcoli possono dare

in soluzione pesi fisici doppi di quelli chimici ben noti, in quanto possono presentarsi sotto forma di particelle formate di due molecole chimiche unite fra loro da valenza *coordinativa*. Si può per essi parlare di molecole coordinative, il cui peso molecolare è la somma dei pesi degli atomi uniti per valenze principali e coordinative.

In chimica organica, parlando di peso molecolare, si intende sempre il peso molecolare chimico: quando si vuol passare dai pesi fisici ai pesi chimici, dal *peso di particella* (fisico) al *peso di molecola* (chimico), è necessaria una grande cautela, e solo dopo controlli ripetuti chimici e fisici è permesso di stabilire una corrispondenza fra i due. Questo sia detto in modo particolare per le grosse molecole delle quali trattiamo, mentre per le piccole molecole la coincidenza è quasi sempre assicurata, ed è sempre assicurata per composti nettamente omeopolarari. Date queste difficoltà, è difficile di parlare con certezza di peso molecolare chimico finchè non è chiarita la costituzione interna della sostanza in esame.

Convieni perciò prendere prima di tutto in esame le determinazioni del *peso molecolare chimico*, o *peso molecolare in senso ristretto*, con particolare riferimento alle grosse molecole organiche.

In qualunque sostanza pura i metodi chimici di analisi diretta, elementare, permettono di assegnare, più o meno facilmente, con maggiore o minore approssimazione, *una formula minima*: ossia dalle percentuali dei diversi elementi presenti si può risalire al numero minimo di atomi presenti nella sostanza, in base alla conoscenza dei rispettivi pesi atomici. Così, tanto per dare alcuni esempi, dall'analisi dell'acqua ossigenata:

idrogeno	5,89 %
ossigeno	94,11 %

si può risalire ad una formula minima HO; da quella del caucciù

idrogeno	11,83 %
carbonio	88,17 %

ad una formula minima C_3H_5 ; da quella dell'acido stearico

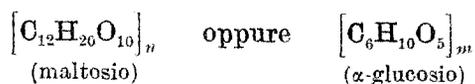
idrogeno	76,00 %
carbonio	12,77 %
ossigeno	11,23 %

ad una formula minima $C_9H_{18}O$.

E' così fatto il primo passo per svelare la costituzione di una sostanza: il primo e il più facile.

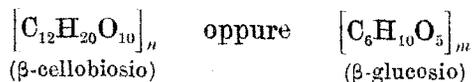
Più oltre ci si può spingere agevolmente, quando si ha la possibilità di individuare nella sostanza in esame non soltanto gli atomi, ma anche alcuni gruppi atomici caratteristici; nel terzo esempio sopra riportato, l'acido stearico, l'acidità è subito svelabile, e una determinazione della quantità di base capace di reagire con l'acido stesso (numero di acidità) permette immediatamente di dire che la formula minima non è $C_9H_{18}O$, ma è $C_{18}H_{36}O_2$, in quanto un equivalente di base è fissato da un peso corrispondente al doppio di $C_9H_{18}O$.

Naturalmente se la sostanza è formata da un numero notevole di atomi uguali, la determinazione della formula minima può presentare incertezze legate ai possibili errori analitici: in tali casi l'individuazione e la determinazione di gruppi costituenti o di atomi speciali può essere di grandissimo aiuto: il riconoscimento per esempio in una certa emocianina (pigmento respiratorio del sangue di alcuni animali inferiori) di una percentuale di rame di 0,27 % permette di dire che la molecola di emocianina, dovendo contenere almeno un atomo di rame, dovrà avere un peso molecolare almeno di 24000. Ma il metodo di ricerca dei gruppi costituenti è sfruttabile in pieno quando la sostanza può essere scissa, senza perdite, in pezzi facilmente riconoscibili e già noti: se prendiamo l'amido, la cui formula minima è $C_6H_{10}O_5$, e lo idrolizziamo, per esempio per riscaldamento con acqua in presenza di acidi, otteniamo una soluzione di maltosio $C_{12}H_{22}O_{11}$, e questo può essere ulteriormente scisso (per opera dell'enzima maltasi), in due molecole $C_6H_{12}O_6$ di glucosio. Vediamo quindi che l'amido è costituito da gruppi tutti eguali (perchè alla fine della demolizione idrolitica si hanno pezzi tutti eguali), che per assorbimento d'acqua si distaccano dando maltosio, e, successivamente, glucosio: si potrebbe perciò scrivere l'amido come:



nelle quali formule sappiamo, rispetto alla semplice formula minima, che gli atomi non sono raggruppati in un modo qualunque, ma precisamente in gruppi $C_6H_{10}O_5$: e anzi, che questi gruppi a due a due sono uniti in gruppi maggiori aventi già un grado differente di stabilità.

Lo stesso si dica della cellulosa, che si può descrivere, in base ad analoghi esperimenti,



In questi casi il prodotto di demolizione è unico, e direttamente non permette di dir nulla circa il peso molecolare. Ma in altri si ottiene

un insieme di numerosi prodotti, i quali possono dare ampia luce sulla costituzione e sulla possibile grandezza molecolare. Tale è il caso delle proteine.

Come è noto, idrolizzando con mezzi idonei una proteina, si ottiene una miscela di prodotti di demolizione, amminoacidi, che erano originariamente legati nelle molecole delle proteine. Secondo i suggerimenti di E. FISCHER e di F. HOFMEISTER⁽¹⁾ gli amminoacidi sono legati fra loro attraverso legami — CO NH — o legami peptidici, e costituiscono lunghe catene. Ora si può identificare con precisione l'esistenza e la quantità di molti amminoacidi nella miscela di idrolisi: dividendo le percentuali di residuo di amminoacido per i relativi pesi molecolari si hanno i grammo-equivalenti di residui di amminoacido per 100 grammi di proteine: d'altra parte, noto il peso molecolare medio dei residui di amminoacido ottenuti, si calcola il numero complessivo di grammo-equivalenti di residuo di amminoacido medio nella proteina: e i rapporti fra i grammo-equivalenti dei vari amminoacidi e questo numero complessivo di grammo-equivalenti medi danno le frazioni molecolari dei singoli amminoacidi determinati: poichè nella molecola non ci può essere una frazione di amminoacido, si risale da tali rapporti al numero minimo di residui di amminoacido medio nella molecola, ossia al peso molecolare minimo (tale numero minimo è dato dal minimo comune multiplo dei denominatori delle frazioni molecolari sopraindicate). BERGMANN e collaboratori⁽²⁾ hanno così trovate alcune regolarità molto interessanti circa il numero di amminoacidi totali e il numero di ciascuno di essi nella molecola di proteina; secondo i loro risultati il numero di residui di un certo amminoacido è esprimibile con il prodotto di una potenza di 2 per una potenza di 3 (compreso l'esponente 0), e con un prodotto analogo il numero complessivo degli amminoacidi della molecola. Queste regolarità, se confermate su numerose proteine, darebbero luce sul fatto che le diverse proteine dimostrano pesi molecolari multipli di un certo peso unitario (34500) corrispondente per esempio all'albumina dell'uovo, come si vedrà in seguito. I dati di BERGMANN relativi a quattro proteine sono riportati nella tabella 1, mentre altri valori sono raccolti nella tabella 2, ricavati da E. I. COHN⁽³⁾: questi sono principalmente basati sulle analisi dello zolfo totale e alcali labile. Si vede anche qui, tranne che per la metionina della caseina e per la tirosina dell'edestina, la regola della potenza di 2 e di 3.

TABELLA 1

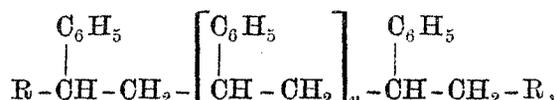
	EMOGLOBINA	FIBRINA	ALBUMINA UOVO	FIBROINA DELLA SETA
Ammino acidi totali	$2^6.3^2 = 576$	$2^6.3^2 = 576$	$2^5.3^2 = 288$	$2^5.3^4 = 2592$
Peso molecolare medio dei residui	115,5	120,3	123,9	84,9
Peso molecolare	66520	69300	35700	217700
Glicina	—	—	—	$2^4.3^4 = 1296$
Alanina	—	—	—	$2^3.3^4 = 648$
Arginina	$2^2.3^4 = 12$	$2^5.3^0 = 32$	$2^2.3^4 = 12$	$2^2.3^4 = 12$
Lisina	$2^2.3^2 = 36$	$2^4.3^4 = 48$	$2^2.3^4 = 12$	$2^2.3^0 = 4$
Istidina	$2^5.3^0 = 32$	$2^2.3^4 = 12$	$2^2.3^0 = 4$	$2^0.3^0 = 1$
Acido aspartico	$2^5.3^0 = 32$	$2^5.3^0 = 32$	$2^4.3^0 = 16$	—
Acido glutammico	$2^4.3^0 = 16$	$2^3.3^2 = 72$	$2^2.3^2 = 36$	—
Tirosina	$2^2.3^4 = 12$	—	$2^3.3^0 = 8$	$2^4.3^4 = 162$
Prolina	$2^2.3^4 = 12$	$2^5.3^0 = 32$	—	—
Triptofano	—	$2^4.3^2 = 18$	—	—
Cisteina	$2^0.3^4 = 3$	$2^0.3^2 = 9$	$2^1.3^4 = 6$	—
Metionina	—	$2^2.3^4 = 12$	$2^2.3^4 = 12$	—

TABELLA 2

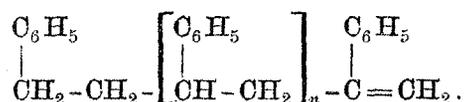
	CISTEINA	METIONINA	TRIPTOFANO	TIROSINA	P. M.
Albumina uovo	$2^4.3^4 = 6$	$2^2.3^4 = 12$	$2^1.3^0 = 2$	$2^3.3^0 = 8$	36000
Insulina	$2^2.3^2 = 36$	$2^0.3^0 = 1$	—	$2^3.3^1 = 24$	{ 35000 37700
Zeina	$2^0.3^4 = 3$	$2^1.3^4 = 6$	—	$2^2.3^1 = 12$	39000
Gliadina	$2^3.3^0 = 8$	$2^1.3^1 = 6$	$2^2.3^0 = 4$	$2^3.3^0 = 8$	42000
Emoglobina ca- vallo	$2^0.3^4 = 3$	$2^1.3^0 = 2$	$2^1.3^0 = 2$	$2^1.3^1 = 6$	33300
Siero albumina	$2^2.3^2 = 36$	—	$2^1.3^0 = 2$	$2^1.3^2 = 18$	73000
Caseina	$2^0.3^4 = 3$? = 21	$2^3.3^0 = 8$?	96000
Miosina coniglio	$2^0.3^4 = 3$	$2^3.3^1 = 24$	$2^2.3^0 = 4$	$2^1.3^2 = 18$	100000
Edestina	$2^4.3^4 = 6$	{ $2^0.3^2 = 9$ $2^3.3^0 = 8$	—	? = $13 \div 14$	54000

L'analisi dei prodotti di demolizione della molecola può così dare, in alcuni casi, indicazioni buone rispetto al peso molecolare; ma spesso, come si è visto nel caso della cellulosa, permette di dedurre soltanto poco. Può soccorrere in tali casi la determinazione dei gruppi terminali: se la molecola è formata dalla riunione di molti gruppi eguali si deve avere una differenza fra un gruppo che è legato da ogni lato ad altri, e un gruppo che abbia ancora qualche legame libero, ossia

sia alla « superficie » o all'« estremità » della molecola. Per esempio, nel polistirolo, se si esclude la formazione di anelli chiusi, si può pensare ad una saturazione delle valenze terminali della catena di polimerizzazione con altri gruppi R:



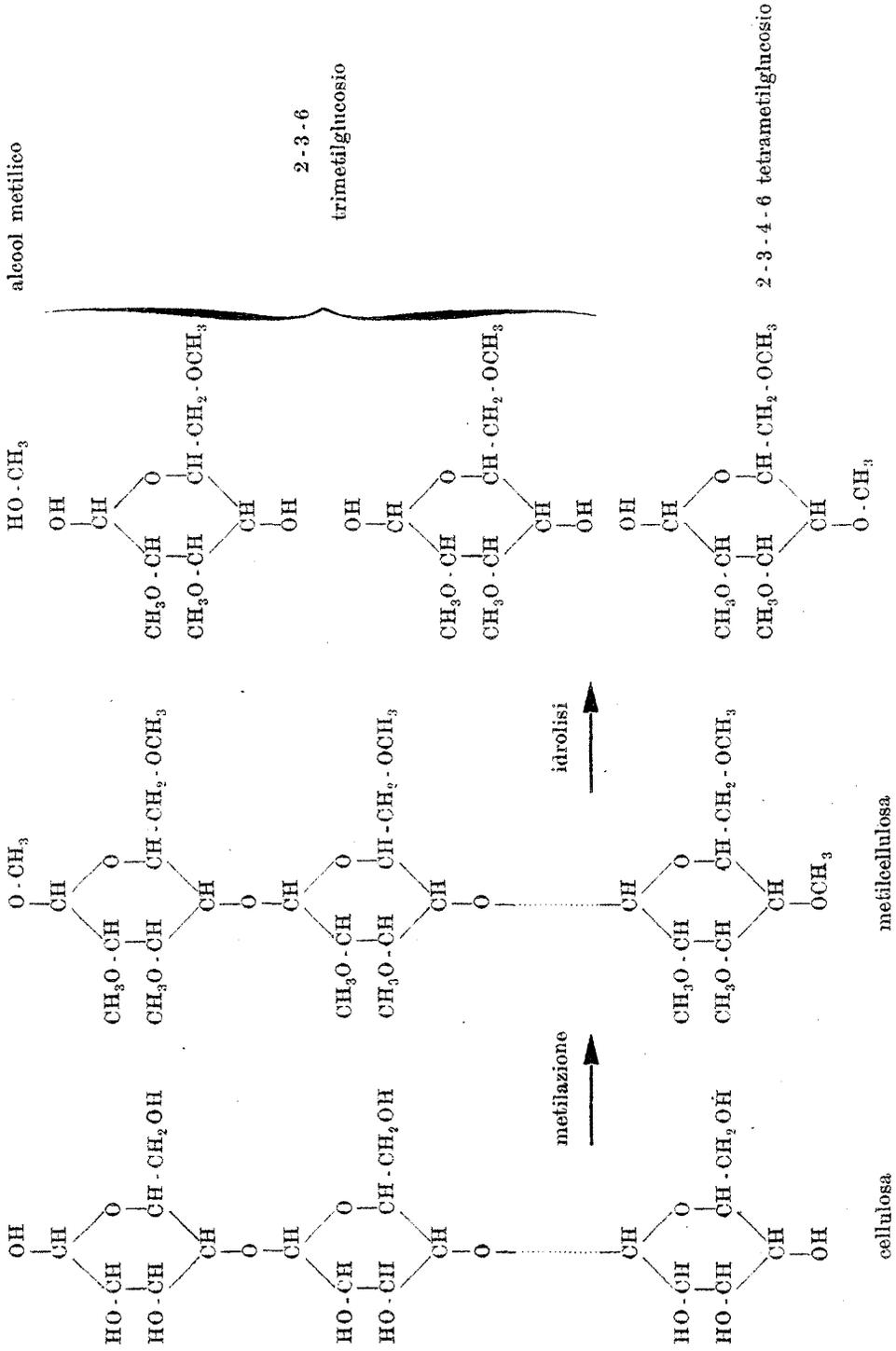
oppure alla localizzazione di un doppio legame ad una estremità:



La determinazione del *numero* di questi gruppi terminali, se possibile, permette perciò ancora la determinazione del peso molecolare.

In generale si trasforma la sostanza in istudio facendola reagire con qualche prodotto che renda più facile l'identificazione dei gruppi terminali stessi; così trattando i poliossimetileni con anidride acetica o con alcool metilico e acido solforico si ottengono i diacetati o gli eteri dimetilici per reazione all'estremità della catena: da questi una determinazione del gruppo acetilico o del metossile permette il calcolo del peso molecolare, ossia del grado di polimerizzazione.

A questo gruppo di procedimenti appartengono anche quelli diretti a dare un'idea del peso molecolare della cellulosa o dell'acido o del glicogeno: BERGMANN e MACHEMER ⁽¹⁾ titolarono il contenuto di aldeidi terminali con soluzioni alcaline di iodio, su prodotti di demolizione di acetilcellulose, trovando pesi molecolari fino a circa 70.000 (400 ÷ 450 glucosi); SCHMIDT ⁽²⁾ ossidò i gruppi aldeidici terminali delle cellulose a gruppi carbossilici e in base al dosaggio di questi trovò un peso molecolare corrispondente ad una catena di circa 100 glucosi (16200); secondo il metodo di HAWORTH e MACHEMER si metila completamente la cellulosa (o l'amido ecc.), indi si procede all'idrolisi: dai gruppi di glucosio centrali si può ottenere solo il 2-3-6 trimetilglucosio, da quelli terminali il 2-3-4-6 tetrametilglucosio, dato che per quelli centrali la posizione 4 è legata attraverso il ponte di ossigeno alla posizione 1 del glucosio adiacente: ciò risulta dallo schema seguente:



Il dosaggio del tetrametilglucosio presente nei prodotti d'idrolisi permise ad HAWORTH ⁽⁶⁾ di affermare che il numero di cellobiosi nella cellulosa è non inferiore a 50 e non molto superiore a 100 (P. M. 20.000 ÷ 40.000), che ⁽⁷⁾ nell'amido di patate si hanno circa 24-30 glucopiranosidi, e nel glicogeno 12-18 solamente. HESS e NEUMANN ⁽⁸⁾ invece, con tecnica migliorata per evitare probabili errori del metodo di HAWORTH, e capace di svelare i gruppi terminali di catene fino a oltre 10^4 C₆, giungono al risultato di 360 unità nel ramie imbiancato tecnicamente (60.000 = P. M.), di un numero infinito ossia grandissimo (20.000 ÷ 30.000 C₆) nel cotone (quantità di tetrametilglucosio non rivelabile con il loro metodo). Più recentemente HAWORTH e collaboratori ⁽⁹⁾ hanno riscontrato, sempre con la determinazione dei derivati metossilici, pesi molecolari corrispondenti fino a 240 glucosidi in alcuni casi e a un numero grandissimo in altri, riscontrando anche demolizione graduale della molecola in successive metilazioni. Si vedrà il confronto con il peso molecolare determinato per via fisica.

Corrispondentemente per l'amido HESS e LUNG ⁽¹⁰⁾ trovano un grado di polimerizzazione apparente intorno a 50 (8000 = P. M.), mentre HIRST e YOUNG ⁽¹¹⁾ ottengono ancora 24 ÷ 30 tanto su amidi ad altissimo peso molecolare (viscosimetrico) che in amidi a basso peso molecolare.

Vedremo che queste diverse determinazioni sono spesso in iscarso accordo con altre di tipo fisico; se ad esse si dà l'interpretazione di caratterizzazione dei pesi molecolari, ad esse in tal caso non si può dare più che un valore di larga indicazione, in quanto la determinazione dei gruppi terminali presuppone una certa condizione dei gruppi stessi, tale da permettere la reazione impiegata per svelarli: se i gruppi stessi sono impegnati in qualche modo, per esempio nella cellulosa con sostanze non *cellulosiche*, facilmente possono sfuggire; e d'altra parte fenomeni di rottura di molecole per azioni di ossidanti possono far apparire numeri di gruppi terminali più alti di quelli reali. Confrontando invece i relativi pesi molecolari apparenti con quelli fisici determinati per altre vie, si possono avere preziose indicazioni sulla *forma* delle molecole.

Quanto è stato esposto finora dà un'idea dei metodi chimici di determinazione del peso molecolare applicati alle grosse molecole. In ogni caso essi forniscono un peso molecolare chimico minimo: e, a parte le maggiori difficoltà e le minori possibilità di applicazione, non differiscono fundamentalmente dai metodi chimici impiegati anche per le piccole molecole.

Invece si presentano grosse differenze quando si utilizzano i metodi fisici, ossia si devono determinare i pesi molecolari fisici: tanto che

conviene definire a qual punto si deve incominciare a parlare di grosse molecole in confronto alle *piccole* molecole ordinarie.

I criteri che si possono adottare sono molti: criteri per esempio di solubilità, di volatilità, i quali conducono a limiti molto diversi, in quanto i valori dipendono non solo dalla grandezza molecolare, ma anche dalla forma delle molecole. I metodi classici di determinazione del peso molecolare (ebullioscopia, crioscopia, densità di vapore) hanno però un limite di validità: l'ultimo evidentemente è possibile solo per sostanze volatili e non decomponibili nel passaggio a vapori, quindi vale soltanto per molecole molto piccole; gli altri cominciano ad essere molto incerti quando i pesi molecolari sono superiori a 10.000, se pure è possibile ottenere la necessaria solubilità. Possiamo così fissare arbitrariamente intorno a 10.000 il limite fra *piccole* e *grosse* molecole.

E limitiamo ormai il nostro campo alle grosse molecole.

Per l'impossibilità di ottenere le sostanze corrispondenti allo stato gassoso, la ricerca del peso molecolare fisico può essere fatta solamente in soluzione.

Sorge qui una difficoltà fondamentale, che è dipendente proprio dalla definizione di peso molecolare fisico: quello che in un modo o in un altro si misura, in quale relazione sta con il peso molecolare in senso chimico? la sostanza si scioglie effettivamente «molecolarmente», oppure si scioglie per gruppi di molecole, per aggregati, per micelle?

In altre parole, in queste sostanze il processo di soluzione giunge fino alla molecola chimica, oppure si accontenta di aggredire fino a gruppi più o meno grandi di molecole semplici? E, in questa incertezza, quali criteri si hanno per poter decidere per l'una e per l'altra alternativa?

La questione è stata molto discussa (MEYER, MARK, ecc.) anche per l'interpretazione profondamente diversa che si deve dare ai fatti a seconda del criterio adottato. Ma si possono logicamente considerare i criteri seguenti:

— se la soluzione ottenuta fornisce con un certo metodo gli stessi valori di peso molecolare operando in condizioni ambientali diverse, è presumibile che la soluzione sia molecolare, essendo poco probabile che l'aggressione delle valenze secondarie da parte del solvente non sia profondamente influenzata dalle condizioni particolari di operazione: così se una proteina dà lo stesso peso molecolare in soluzioni a diversi pH (ultracentrifuga, sedimentazione) (naturalmente entro il campo di non distruzione delle proteine stesse), si può ritenere che essa sia molecolarmente disciolta (mosaico del tabacco, da pH 1,8 a pH 9, campo coincidente con il campo di stabilità ottenuto per via

biologica (¹²); analogamente se i pesi determinati a diverse temperature sono eguali, si può escludere la presenza di aggregati, che dovrebbero variare di grandezza al variare della temperatura. Come è logico, una constatazione opposta, di variazione di grandezza con le condizioni, non può autorizzare ad affermare che la dissoluzione è per aggregati, finchè non si è esclusa la possibilità che intervengano, nelle diverse condizioni, demolizioni della molecola: e queste si possono verificare per il cambiamento permanente, non reversibile, di particolari proprietà della sostanza in esame.

— se con un certo metodo si ottengono pesi molecolari eguali o per lo meno dello stesso ordine di grandezza in solventi diversi, è molto probabile che la soluzione sia realmente molecolare: è difatti poco verosimile che la rottura di valenze secondarie sia indipendente dalla natura del solvente.

— in un certo preparato risulta un certo peso molecolare con un dato metodo; la sostanza viene poi trasformata chimicamente con un processo che non distrugge l'integrità molecolare, e il nuovo prodotto dimostra un peso molecolare corrispondente al primo; se si può dimostrare che nel trattamento chimico non si è avuta demolizione della molecola (per esempio se, rigenerando il prodotto primitivo, si ottengono soluzioni delle medesime caratteristiche di quelle iniziali), è molto probabile che le soluzioni siano molecolari, perchè è poco verosimile che composti aventi diverse funzioni (cellulosa, acetilcellulosa) si comportino in modo identico in solventi generalmente diversi per quel che si riferisce alla aggressione delle valenze secondarie e alla formazione di micelle: tali sono i risultati su cellulosa, nitrocellulosa, acetilcellulosa; caucciù, idrocaucciù; ecc. (¹³).

E' quindi possibile ricavare conferme sufficienti circa la presenza o l'assenza di micelle, ossia di aggregati labili di molecole, dipendenti nella loro grandezza dalle circostanze di ambiente e di esperienza, in confronto a quella di *molecole fisiche*, ossia di individui aventi notevole stabilità al variare delle circostanze: bisogna sempre ricordare però che questi *individui molecolari fisici* possono differire dalla *molecola chimica* come precedentemente definita.

Sarebbe possibile considerare nei criteri anche quello dell'uguaglianza fra gli individui, perchè le grandezze degli aggregati molto verosimilmente dovrebbero avere una distribuzione statistica intorno ad un valore medio. Ma, come si vedrà, nei prodotti ad alto peso molecolare, specialmente in quelli non aventi una costituzione specifica (proteine), ma costruiti per polimerizzazione, per unione di molti gruppi elementari identici, non si ha mai la presenza di una sola grandezza molecolare, ma si hanno sempre individui di grandezze diverse, anche

molto differenti fra di loro, in modo che i pesi molecolari sono spessissimo pesi medi, anche nelle varie frazioni di una precipitazione frazionata.

Il criterio di eguaglianza degli individui ha perciò solo un'applicazione limitata: esso viene usato specialmente nel caso delle proteine, con i metodi che impiegano l'ultracentrifuga: e in tali casi permette di asserire l'esistenza delle molecole, quando i criteri precedenti non sono applicabili data la labilità delle molecole stesse al variare delle condizioni.

Tenendo a parte il caso delle proteine, per le quali i risultati sperimentali, anche di natura chimica, conducono alla concezione di molecole tutte sensibilmente eguali in una certa specie, e, nelle varie specie, press'a poco multiple di certe grandezze fondamentali (probabilmente questi fatti sono legati alla finalità biologica delle proteine stesse), gli altri composti a grosso peso molecolare non hanno pesi molecolari fissi ben determinati: non sono perciò composti nel senso nel quale questa parola è usata generalmente per le sostanze a peso molecolare piccolo, con proprietà nettamente definite, ma sono già miscele di composti omologhi, distribuiti con una certa legge e che differiscono l'uno dall'altro di una quantità fissa (che si può chiamare l'unità di polimerizzazione). Nel campo delle molecole piccole un esempio di questo potrebbe essere dato da una miscela di idrocarburi paraffinici normali, di formula generale C_nH_{2n+2} , che differiscono l'uno dall'altro per il gruppo $-CH_2-$. L'incremento di un gruppo di polimerizzazione porta ad un cambiamento di proprietà (punto di fusione, punto di ebollizione, viscosità, indice di rifrazione, solubilità, ecc.), ma questo cambiamento è tanto minore quanto minore è il rapporto fra il peso del gruppo di polimerizzazione e il peso del composto: perciò, mentre per bassi pesi molecolari è possibile più o meno facilmente (cristallizzazioni o distillazioni frazionate e successive, precipitazioni frazionate) separare i singoli individui, per pesi molecolari anche non elevatissimi la separazione in individui puri è estremamente difficile, o anche impossibile, data la minima differenza di comportamento fra i singoli individui omologhi adiacenti della miscela. I criteri classici di purezza del composto, costanza di punto di fusione, costanza di punto di ebollizione, cristallizzabilità perfetta, non sono soddisfatti nelle varie frazioni.

Siccome però, per molecole molto grosse, praticamente molte proprietà non sono sensibilmente modificate per variazioni anche notevoli di peso molecolare, è giustificato di chiamare con lo stesso nome tutte le miscele di composti omologhi di serie omologhe e di indicare

per esempio come « cellulosa » tutte le cellulose anche se i loro pesi molecolari possono variare da 350.000 a 20.000.

Vedremo come si può approfittare di questa distribuzione di grandezza per dedurre dalle variazioni di alcune proprietà nelle serie omologhe i pesi molecolari di miscele incognite.

Il fatto che molto spesso non si hanno soluzioni di una sostanza unica, ma di miscele e che perciò si determinano pesi molecolari medi, introduce la questione circa il significato del valore medio del peso molecolare in una miscela. Il valore che si ottiene dipende essenzialmente dal metodo di misura impiegato.

In una miscela si abbia una certa distribuzione di grandezze molecolari. Questa distribuzione è rappresentabile, se consideriamo un numero totale N di molecole, dai numeri N_1, \dots, N_i di molecole aventi rispettivamente i pesi molecolari M_1, \dots, M_i . Sarà:

$$\sum N_i = N,$$

$N_i M_i$ il peso complessivo delle molecole di peso M_i ,

$$\sum N_i M_i \quad \text{il peso totale della quantità considerata.}$$

Se i pesi molecolari sono molto alti, in modo che la differenza fra i pesi M_i e M_{i+1} sia molto piccola rispetto a M_i (per esempio per la cellulosa la differenza minima $M_{i+1} - M_i$ è 162 ($=C_6H_{16}O_5$), e se il peso M_i è dell'ordine di 100.000, il rapporto è inferiore a 2‰) si può sostituire alla distribuzione discontinua reale quella continua data da una funzione $F(M)$ tale che

$$F(M) dM$$

rappresenti il numero di molecole compreso fra M e $M + dM$: in tal caso è:

$$\int_0^{\infty} F(M) dM = N,$$

$M \cdot F(M) \cdot dM$ il peso delle molecole comprese fra M e $M + dM$,

$$\int_0^{\infty} M \cdot F(M) \cdot dM \quad \text{il peso totale della sostanza.}$$

Per determinare il peso molecolare si possono misurare parametri diversi, quali la pressione osmotica, la viscosità, la concentrazione ad una certa altezza in una colonna in equilibrio di sedimentazione come nell'ultracentrifuga, o il gradiente di tale concentrazione nelle stesse

condizioni, come si vedrà in seguito: ad ogni modo parametri che sono ben definite funzioni del peso molecolare e della concentrazione della soluzione. Se si misura un certo valore del parametro in una soluzione di una sostanza costituita da molecole omologhe ma di pesi molecolari differenti, si definisce *peso molecolare medio* quello che dovrebbero avere le molecole, tutte eguali, perchè in una soluzione ad eguale concentrazione della prima si misuri lo stesso valore del parametro.

La funzione che definisce il parametro può sempre essere scritta come il prodotto di una funzione del peso molecolare per una funzione della concentrazione

$$\varphi(M) \cdot \psi(c) .$$

Evidentemente la definizione di peso molecolare medio M_m porta a

$$(1) \quad \varphi(M_m) \cdot \psi(c) = \sum \varphi(M_i) \cdot \psi(c_i)$$

se, come avviene nelle soluzioni sufficientemente diluite, gli effetti di diverse grandezze molecolari si sommano linearmente (c_i è la concentrazione delle molecole di peso M_i). Poichè $c = \sum c_i$, risulta

$$(2) \quad \varphi(M_m) = \frac{\sum \varphi(M_i) \cdot \psi(c_i)}{\psi(\sum c_i)} ,$$

da cui si può ricavare il valore medio M_m .

Questa si può scrivere anche:

$$(3) \quad \varphi(M_m) = \frac{\sum \varphi(M_i) \cdot \psi(N_i M_i)}{\psi(\sum N_i M_i)} ,$$

ricordando che è $N_i M_i = c_i$ se il numero $N = \sum N_i$ di molecole è disciolto nel volume considerato per definire la concentrazione e questa è data in peso per volume.

E' facile vedere che a seconda del parametro utilizzato per la misura la media è diversa.

Misure osmotiche: si misura la pressione osmotica p , che risulta

$$(4) \quad p = k \frac{c}{M} ;$$

perciò

$$(5) \quad \varphi(M) = \frac{k}{M} \quad , \quad \varphi(c) = c$$

$$\frac{1}{M_m} = \frac{\sum \frac{1}{M_i} c_i}{\sum c_i}$$

$$(6) \quad M_m = \frac{\sum c_i}{\sum \frac{c_i}{M_i}}$$

e sostituendo il numero di molecole

$$\frac{1}{M_m} = \frac{\sum \frac{1}{M_i} N_i M_i}{\sum N_i M_i} = \frac{\sum N_i}{\sum N_i M_i}$$

$$(7) \quad M_m = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i}$$

Misure viscosimetriche secondo STAUDINGER: si misura la viscosità specifica, che risulta:

$$(8) \quad \eta_{sp} = k \cdot c \cdot M \quad ;$$

perciò

$$(9) \quad \varphi(M) = k M \quad , \quad \psi(c) = c \quad .$$

Si ha allora

$$(10) \quad M_m = \frac{\sum M_i c_i}{\sum c_i}$$

o anche

$$(11) \quad M_m = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i}$$

Misure all'ultracentrifuga, secondo SVEDBERG, determinando l'equilibrio di sedimentazione. In questo caso non si ha un semplice valore del parametro, ma una curva dei valori del parametro alle diverse profondità della cella: il parametro è una costante se il peso molecolare

è unico per tutte le molecole, è diverso con la profondità se si hanno diversi pesi molecolari. In questo secondo caso perciò non è sufficiente dare il valore locale del parametro, ma occorre anche la sua derivata con la profondità. Si può ottenere dall'esperienza la distribuzione dell'assorbimento di luce, proporzionale alla concentrazione locale, oppure la distribuzione del gradiente di indice di rifrazione, proporzionale al gradiente locale di concentrazione. Nel primo caso l'espressione risulta:

$$(12) \quad \frac{dc_x}{dx} = k x c_x M_x \quad ,$$

se c_x è la concentrazione e M_x il peso molecolare all'altezza x . Perciò

$$(13) \quad \varphi(M) = k x M_x \quad , \quad \psi(c) = c_x \quad ,$$

e quindi

$$(14) \quad M_{mx} = \frac{\sum M_i c_{ix}}{\sum c_{ix}} \quad ,$$

come nel caso delle misure viscosimetriche.

Ma questo dà il peso molecolare medio *locale*, all'altezza x : il peso molecolare medio dell'esperienza sarà la media pesata di tutti i pesi molecolari, ossia

$$(15) \quad M_m = \frac{\int_a^b M_{mx} c_x dx}{\int_a^b c_x dx} \quad ,$$

essendo a e b i limiti inferiore e superiore delle cellule dell'ultracentrifuga.

Sostituendo e ricordando che $c_x = \sum c_{ix}$, si ha

$$(16) \quad M_m = \frac{\int_a^b \sum M_i c_{ix} dx}{\int_a^b \sum c_i dx} = \frac{\sum M_i \int_a^b c_{ix} dx}{\sum \int_a^b c_{ix} dx} \quad .$$

Ora $\int_a^b c_{ix} dx$ è proporzionale alla concentrazione complessiva della specie i , che abbiamo indicato con c_i ; perciò:

$$(17) \quad M_m = \frac{\sum M_i c_i}{\sum c_i},$$

come nel caso viscosimetrico.

Nel secondo caso l'espressione risulta:

$$(18) \quad \frac{d}{dx} \left(\frac{dc_x}{x} \right) = k' M_x \frac{dc_x}{dx}.$$

È allora

$$(19) \quad \varphi(M) = k' M_x, \quad \psi(c) = \frac{dc_x}{dx}.$$

Perciò

$$(20) \quad M_{mx} = \frac{\sum M_i \frac{dc_{ix}}{dx}}{\sum \frac{dc_{ix}}{dx}}.$$

Ma, come del resto risulta dalla (12),

$$\frac{dc_{ix}}{dx} = k x c_{ix} M_i,$$

e quindi

$$(21) \quad M_{mx} = \frac{\sum M_i^2 c_{ix}}{\sum M_i c_{ix}}.$$

Anche qui, come precedentemente, si tratta di peso molecolare medio locale: per avere il peso molecolare medio, si deve fare:

$$(22) \quad M_m = \frac{\int_a^b M_{mx} \frac{1}{x} \frac{dc_x}{dx} dx}{\int_a^b \frac{1}{x} \frac{dc_x}{dx} dx}.$$

Sostituendo i valori, si ha

$$(23) \quad M_m = \frac{\int_a^b \Sigma M_i^2 c_{ix} dx}{\int_a^b \Sigma M_i c_{ix} dx} = \frac{\Sigma M_i^2 \int_a^b c_{ix} dx}{\Sigma M_i \int_a^b c_{ix} dx} .$$

Perciò

$$(24) \quad M_m = \frac{\Sigma c_i M_i^2}{\Sigma c_i M_i}$$

o anche, in funzione dei numeri di molecole,

$$(25) \quad M_m = \frac{\Sigma N_i M_i^3}{\Sigma N_i M_i^2} .$$

E' significativo calcolare quali valori di peso molecolare medio si possono ottenere con i diversi metodi su una miscela data di pesi molecolari. Si immagini una miscela di molecole omologhe, nelle quali i successivi pesi molecolari differiscono di una quantità costante α :

$$M_i = M_0 + \alpha i \quad (i \text{ da } 0 \text{ a } n),$$

e le quantità $\frac{N_i}{\Sigma N_i}$ siano tutte eguali ad un valore β .

Se i pesi molecolari sono compresi fra M_0 e M_n , si hanno $n + 1$ specie e β risulta $\frac{1}{n + 1}$.

Si ha allora

$$N_i = \beta \sum_0^n N_i ,$$

$$\Sigma N_i M_i = \sum_0^n N_i \left(M_0 + \frac{\alpha n}{2} \right) ,$$

$$\Sigma N_i M_i^2 = \sum_0^n N_i \left\{ M_0^2 + M_0 \alpha n + \alpha^2 \frac{n(2n+1)}{6} \right\} ,$$

$$\Sigma N_i M_i^3 = \sum_0^n N_i \left\{ M_0^3 + \frac{3}{2} M_0^2 \alpha n + \frac{1}{2} M_0 \alpha^2 n(2n+1) + \alpha^3 \frac{n^2(n+1)}{4} \right\}$$

Perciò:

Media osmotica

$$\frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i} = M_0 + \frac{\alpha n}{2};$$

Media viscosimetrica o ultracentrifuga I

$$\frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i} = \frac{M_0^2 + M_0 \alpha n + \frac{1}{6} \alpha^2 n(2n + 1)}{M_0 + \frac{\alpha n}{2}};$$

Media ultracentrifuga II

$$\frac{\sum N_i M_i^3}{\sum N_i M_i^2} = \frac{M_0^3 + \frac{3}{2} M_0^2 \alpha n + \frac{1}{2} M_0 \alpha^2 n(2n + 1) + \frac{1}{4} \alpha^3 n^2(n + 1)}{M_0^2 + M_0 \alpha n + \frac{1}{6} \alpha^2 n(2n + 1)}.$$

Se, per esempio, si ha:

$$M_0 = 30000$$

$$M_n = 111000$$

$$\alpha = 162$$

$$n = 500, \alpha n = 81000$$

risultano le medie seguenti:

$$\text{osmotica} \quad 70500$$

$$\text{viscosimetrica} \quad 78400$$

$$\text{ultracentrifuga II} \quad 84600$$

con uno scarto rispetto alla osmotica di 11, 2% per la seconda, di 20% per la terza.

Si vede di qui le differenze che si possono riscontrare impiegando metodi diversi di misura su miscele di omologhi di diversa grandezza molecolare. La non conoscenza di questo fatto ha dato origine a discussioni sulla validità relativa dei diversi metodi, quando si ottenevano con essi risultati diversi sullo stesso materiale.

Le differenze divengono specialmente grandi quando la miscela contiene pesi molecolari molto differenti. Supponiamo una miscela co-

stituita da egual numero di molecole di peso molecolare M_1 e di molecole di peso molecolare M_2 . È allora:

$$\begin{aligned} N_1 &= N_2 = 1 \\ \Sigma N_i &= 2 \\ \Sigma N_i M_i &= M_1 + M_2 \\ \Sigma N_i M_i^2 &= M_1^2 + M_2^2 \\ \Sigma N_i M_i^3 &= M_1^3 + M_2^3 \\ \text{Media osmotica} & \quad \frac{M_1 + M_2}{2} \\ \text{Media viscosimetrica} & \quad \frac{M_1^2 + M_2^2}{M_1 + M_2} \\ \text{Media ultracentrifuga II} & \quad \frac{M_1^3 + M_2^3}{M_1^2 + M_2^2} \end{aligned}$$

Sia per esempio $M_1 = 10000$, $M_2 = 100000$. Risultano i pesi medi seguenti:

$$\begin{aligned} \text{osmotico} & \quad 55000 \\ \text{viscosimetrico} & \quad 91800 \\ \text{ultracentrifuga II} & \quad 99200. \end{aligned}$$

Se invece che da egual numero, la miscela è fatta da egual peso di molecole M_1 e M_2 , si ha:

$$\begin{aligned} N_1 M_1 &= N_2 M_2 = 1 \\ N_1 &= \frac{1}{M_1} \quad ; \quad N_2 = \frac{1}{M_2} \\ \Sigma N_i &= \frac{1}{M_1} + \frac{1}{M_2} \quad ; \quad \Sigma N_i M_i = 2 \\ \Sigma N_i M_i^2 &= M_1 + M_2 \quad ; \quad \Sigma N_i M_i^3 = M_1^2 + M_2^2 \end{aligned}$$

Con $M_1 = 10000$ e $M_2 = 100\,000$ risulta:

$$\text{media osmotica} \quad \frac{2}{\frac{1}{M_1} + \frac{1}{M_2}} = 18180$$

media viscosimetrica $\frac{M_1 + M_2}{2} = 55000$

media ultracentrifuga II $\frac{M_1^2 + M_2^2}{M_1 + M_2} = 91800$.

Una gelatina esaminata all'ultracentrifuga da KRISHNAMURTI e SVEDBERG (⁴) e ricalcolata da LANSING (¹⁵), ha dato

media osmotica 9750

media viscosimetrica 36000

media ultracentrifuga II 151000,

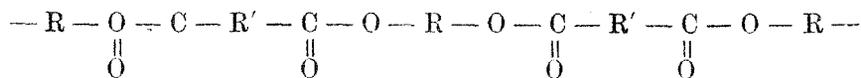
dimostrando ancora la differenza fondamentale fra le diverse medie.

Le determinazioni del peso molecolare effettivo, o del peso molecolare medio, sia chimico che fisico, non è che un passo sulla via della caratterizzazione delle grosse molecole. Anche nel caso di molecole costituite da gruppi tutti eguali, come per la cellulosa o il caucciù, *il modo* secondo il quale questi gruppi sono legati può influire grandemente sulle proprietà della molecola: e il numero di modi possibili è grandissimo appena sia un po' grande il numero dei gruppi costituenti la molecola. Quando poi i gruppi costituenti sono diversi fra loro (come nel caso delle proteine), la varietà di costruzione della molecola è ancora enormemente più grande, il numero degli isomeri per un dato peso molecolare estremamente grande. Anche senza voler entrare nella precisa disposizione dei singoli gruppi in questi ultimi casi, è certamente di importanza fondamentale il riuscire a determinare la *forma* della molecola, ossia l'organizzazione generale dei gruppi costituenti nella molecola stessa. Questa *forma* ha certamente stretta relazione con le finalità cui è destinata la molecola nell'organismo che la produce, in quanto le proprietà fisiche e chimiche di essa dipendono molto dalla forma stessa.

Da questo punto di vista le grosse molecole si possono distinguere in più gruppi: si possono avere molecole *lineari*, costruite cioè come lunghe catene, nelle quali i diversi gruppi costituenti sono fra loro legati l'uno successivamente all'altro e ciascuno è legato soltanto ad altri due; e queste possono essere poi mantenute *diritte*, e allora formano quasi dei bastoncini estremamente allungati rispetto alla sezione trasversale, dotati di una certa rigidezza, oppure possono essere più o meno *aggomitolate*, avvolte a spirali o elicoidalmente, in modo da sembrare degli ammassi di forma più o meno ellissoidale. Si possono avere

molecole più compatte, nelle quali molti gruppi costituenti sono legati come rami ad un tronco fondamentale: sono queste talora anche molecole quasi lineari, in quanto la forma di bastoncino, sia pure di diametro più grosso, può essere ancora mantenuta. Si possono avere infine molecole nelle quali questa ramificazione si estende anche ai rami secondari, nelle quali cioè si può parlare soltanto di distribuzione tridimensionale o bidimensionale nei gruppi costituenti, e che perciò assumono un aspetto esterno tipicamente rotondeggiante o ellissoidico, con rapporti diversissimi tra i semiassi (¹⁶).

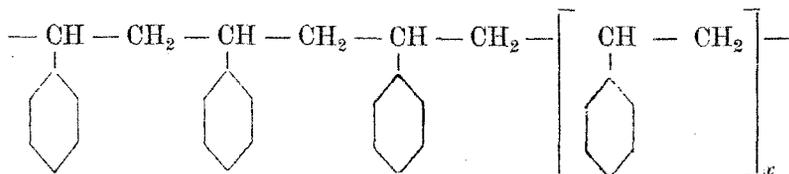
Tutti questi tipi di molecole si riscontrano in natura, e il presentarsi dell'uno e dell'altro dipende sia dal meccanismo di formazione sia, probabilmente, dalla finalità cui la molecola è destinata. Così, quando si fa reagire un alcool polivalente (glicol, glicerina, ecc.) con un acido polibacico (anidride ftalica, acido sebacico, acido adipico, acido citrico, ecc.) si ottengono dei prodotti resinosi (le ben note resine glicifaliche), nei quali una funzione alcoolica è esterificata, eliminando acqua, con una funzione acida: ma se l'alcool è bivalente e l'acido è pure bivalente, la struttura che ne risulta non può essere che data dalla successione di un alcool e di un acido, alternativamente susseguentisi lungo una catena: il polimero non può avere che una molecola lineare (purchè non intervengano reazioni secondarie di anidrifcazione):



(R (OH)₂ glicol etilenico; R' (COOH)₂ acido ftalico).

Se invece l'alcool o l'acido o ambedue hanno più di due funzioni alcooliche o acide, il polimero non può costruirsi che tridimensionale in quanto ogni gruppo avente più di due funzioni diviene un centro di ramificazione della molecola (es. glicerina, anidride ftalica). E le proprietà, come vedremo, sono perfettamente in accordo con questo.

Lo stesso si dica quando si hanno reazioni di polimerizzazione che da gruppi semplici conducono a grosse molecole: lo stirolo  CH = CH₂ si polimerizza con molta facilità eliminando il doppio legame:

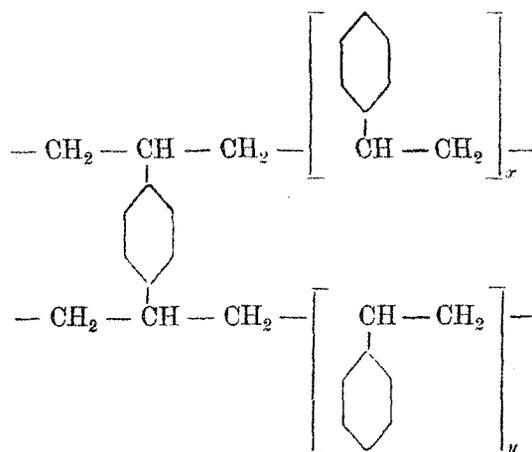


e formando delle lunghe catene (molecola lineare) che giungono anche

a riunire 5.000 ÷ 10.000 gruppi costituenti, e che, anche così grandi, sono solubili in adatto solvente. Se però lo stirolo contiene anche in piccolissima percentuale del paradivinilbenzolo



il quale, entrando nel polimero, deve costituire un centro di ramificazione, il polimero diviene tridimensionale



e perde la solubilità; diviene soltanto rigonfiabile nei solventi nei quali il polistirolo semplice è completamente solubile. Ed è sufficiente, per provocare questo cambiamento di *forma*, una quantità piccolissima di divinilbenzolo, una molecola ogni 10.000 ÷ 50.000 di stirolo, ossia una percentuale in peso di appena 0,01 ÷ 0,002% (¹⁷). Come è naturale, la rigonfiabilità è tanto minore quanto maggiore è il numero delle molecole di divinilbenzolo, ossia il numero dei ponti o centri di ramificazione.

Nel campo dei prodotti naturali noi troviamo molecole tipicamente lineari nella cellulosa, nella chitina, nel caucciù, nella fibroina della seta, nella cheratina dei capelli e della lana, molecole rotondeggianti nella maggior parte delle proteine, nel glicogeno, in molti virus filtrabili, molecole ramificate ma aventi una dimensione predominante nell'amido. Non è ben chiaro però se la forma globulare delle proteine corrisponda a molecole tipicamente tridimensionali o piuttosto a molecole lineari strettamente aggomitolate: la possibilità di forti rigonfiamenti nelle proteine per diversi pH indurrebbe a questa seconda ipotesi.

La finalità della molecola in relazione alla forma è chiaramente visibile nei tre idrati di carbonio cellulosa, amido, glicogeno: come è

noto la cellulosa è un materiale di costruzione per la pianta, materiale tipicamente incaricato della resistenza meccanica: la molecola di cellulosa deve perciò sottostare a certe condizioni, fra le quali possiamo indicare: possibilità di aumento di grandezza delle molecole senza alterare le proprietà meccaniche della molecola già esistente, e con produzione di un tratto nuovo con proprietà identiche a quella esistente; possibilità di disposizione delle molecole con le loro direzioni di resistenza (catene di valenza principali) nella direzione degli sforzi meccanici cui la struttura può essere sottoposta; minima attaccabilità della molecola da parte degli agenti idrolizzanti, in quanto la molecola deve costituire l'ossatura del vegetale. Evidentemente a queste condizioni si può rispondere solo con una struttura lineare, nella quale l'aggiunta di nuovi gruppi ad un estremo della catena esistente non modifica le proprietà di questa, le estende al nuovo tratto formato nella quale la molecola può disporsi con la catena parallela alla direzione degli sforzi principali; nella quale la separazione di glucosio può avvenire facilmente solo alle estremità libere della catena, ossia l'attaccabilità è limitata a una superficie piccolissima della molecola. E si giunge a pesi molecolari superiori a 300.000.

L'amido è un materiale di riserva, di nutrizione; esso si accumula in dati organi (semi, tuberi, ecc.), dai quali può essere mobilizzato in date condizioni di vita della pianta. Perciò esso deve sottostare a specifiche condizioni; per esempio, pur essendo di per sé insolubile nei liquidi acquosi, deve facilmente dar origine a prodotti solubili per idrolisi, per assorbimento d'acqua, in modo da poter facilmente essere trasportato dall'organo in cui è in riserva agli organi che lo devono utilizzare; ma questa trasformazione non è necessario che sia molto rapida, anzi è utile che avvenga gradualmente. La presenza di molti gruppi terminali rende facile l'idrolisi che da essi si inizia, ma un numero non troppo grande di essi rende più graduale la dissoluzione; l'amido perciò è una catena ramificata, con catene laterali di media lunghezza (20 ÷ 30 glucosi) con una lunghezza del tronco principale circa 1/10 di quella di una cellulosa di egual peso molecolare ⁽¹⁸⁾.

Per questa ragione le determinazioni di gruppi terminali danno pesi molecolari chimici minimi molto piccoli, nonostante che corrispondano a molecole anche di P. M. 300.000 e che si siano osservate all'ultracentrifuga particelle con P. M. fino a 4.000.000 ⁽¹⁹⁾.

Il glicogeno è anche un materiale di riserva, degli animali: ma esso è un materiale di riserva *energetico* per il ricambio muscolare; la sua mobilizzazione deve essere rapidissima, l'attaccabilità immediata, appena se ne ha la richiesta. Perciò la sua molecola, che può giungere a pesi molecolari di 800.000, deve presentare un numero grandissimo

di estremità aggredibili: si può pensare ad un tronco di catena di glucosi (100 elementi) ciascuno dei quali porta tre ramificazioni di catene di 12 ÷ 18 glucosi: la forma perciò è ellissoidica, il glicogeno si comporta come un colloide sferoidale (²⁰).

In modo analogo le proteine cui sono affidati compiti di resistenza meccanica (fibroina, cheratina) sono costituite da lunghe catene nelle quali gli amminoacidi sono legati uno a seguito dell'altro, senza diramazioni: gli eventuali gruppi amminici o gruppi acidi liberi lungo la catena (per amminoacidi biamminici o biacidi) legano le catene una all'altra a intervalli, contribuendo alla resistenza meccanica solidale del fascio di molecole. Invece le proteine cui è legato il fenomeno vitale appaiono rotondeggianti quando sono separate dalle cellule, ma probabilmente costituiscono una *rete* di molecole lineari interlegate con legami peptidici o di altra natura e liberamente percorribile dai liquidi e dalle soluzioni saline (²¹).

Ho accennato che le proprietà fisiche dipendono molto dalla *forma* delle molecole: bisogna qui distinguere fra molecole in soluzione e molecole allo stato solido, ossia fra le proprietà legate alle singole molecole e quelle dipendenti dagli insiemi di molecole.

Senza entrare in particolari che richiederebbero un lungo discorso, fra le proprietà allo stato solido che sono legate alla forma delle molecole e alla loro disposizione reciproca si ha: la resistenza meccanica nelle diverse direzioni, che dipende dalle valenze principali e dalle valenze secondarie che entrano in gioco: si ha così una forte resistenza della catena di cellulosa nel senso della lunghezza (valenze principali nei legami C—O e C—C) cui corrisponde la resistenza delle fibre di cellulosa, e una scarsa resistenza nel senso trasversale e al taglio nel senso della catena, dovuta al fatto che fra catena e catena si hanno solo valenze secondarie, cui corrisponde la debole resistenza alla flessione e la facile piegabilità delle fibre cellulosiche, in confronto alla elasticità di flessione delle fibre tipo seta, proteiniche, nelle quali esistono ponti peptidici fra catena e catena. Si ha un modulo elastico elevato quando entrano in gioco valenze principali, uno basso quando si hanno valenze secondarie o di VAN DER WAALS: il modulo elastico longitudinale perciò, come la resistenza, è tanto più elevato quanto più parallelizzate sono le catene (per le cellulose può raggiungere 5000 ÷ 11000 kg/mm² (lino, ramiè, canapa) e può scendere intorno a 1000 (viscosa) nelle fibre artificiali comuni o risalire a 3000 circa in quelle particolarmente orientate (viscosa LILIENFELD (²²)), ed è basso nei polimeri tridimensionali nei quali le direzioni delle valenze principali sono distribuite in un modo qualunque.

Anche la fragilità è legata a distribuzioni non regolari (resine tri-

dimensionali), mentre può essere molto bassa, insieme a una deformabilità plastica grandissima, nei sistemi di catene sia pure disposte irregolarmente ma legate fra loro nei punti di contatto (sistemi proteïnici). E può divenire invece elevata, anche per molecole lineari, se queste sono molto grandi, parallelizzate e impedito di scorrimenti reciproci, quando si abbiano sollecitazioni di piegamento notevoli o di urto, come in certi tipi di fibre artificiali nella sollecitazione di annodamento: evidentemente le molecole più lontane dall'asse neutro di flessione si strappano se non è loro permesso un certo spostamento plastico relativo alle vicine.

Le proprietà che invece dipendono dalla forma delle singole molecole si svelano nelle soluzioni: e prima fra tutte la *solubilità* in adatti solventi. Potrebbe meravigliare che si riesca a sciogliere i polistiroli con pesi molecolari fino a 1.000.000 e non si riesca a sciogliere resine glicifaliche con pesi molecolari di poco superiori a 10.000, se non si ricordasse la diversità di forma delle molecole di queste due sostanze, lineari le prime, tridimensionali le seconde. La solubilità è strettamente legata alla suscettibilità della molecola alle azioni solvatanti, quindi, indipendentemente da azioni specifiche, è dipendente dalla superficie che la molecola offre al solvente in rapporto al suo volume. Si comprende che le molecole lineari, anche se aggomitolate, sono quelle che presentano un massimo di superficie rispetto al proprio volume, e quindi sono quelle che più facilmente si disciolgono molecularmente. Da questa caratteristica dipende il fatto che il maggior numero delle nostre conoscenze sulle grosse molecole si ha per quelle lineari, il minimo per quelle tridimensionali.

La solubilità delle proteine in adatti solventi, mentre le proteine ci appaiono in generale a forma globulare, dipende dal fatto che queste sostanze presentano senza dubbio gruppi attivi superficiali e si comportano perciò come dei poliacidi o delle poliammine, quindi con una notevole affinità con solventi alcalini o acidi; ne è da escludere, come si è detto, che la forma globulare sia apparente, e corrisponda ad un agglomeramento di una molecola lineare o ramificata, facilitato dalle affinità reciproche dei gruppi liberi della proteina. O che corrisponda a una struttura vuota e porosa.

Per molecole della stessa specie, differenti soltanto per il peso molecolare, la solubilità diminuisce al crescere del peso molecolare stesso: su questo fatto si basano i procedimenti di separazione frazionata per pesi molecolari, sia per dissoluzione graduale in solvente contenente quantità sempre minori di un'altra sostanza precipitante (incominciando perciò con liquidi poco solventi, che disciolgono soltanto le molecole più piccole, e successivamente usando liquidi sempre più at-

tivi), sia per precipitazione graduale per aggiunta ad una soluzione di quantità man mano più grandi di un adatto agente precipitante (le prime frazioni contengono le molecole più grandi). E' possibile con questi mezzi di fare una specie di analisi di grandezze molecolari che può fornire preziose indicazioni di ordine scientifico e di ordine tecnologico.

Due sono fundamentalmente le proprietà delle soluzioni che sono strettamente legate alla forma delle molecole: la viscosità e le sue variazioni al variare del gradiente di velocità attraverso la soluzione; la eventuale doppia rifrazione presentata dalle soluzioni quando in esse si abbia un certo gradiente di velocità.

Quando una soluzione di macromolecole aventi una dimensione predominante rispetto alle altre si muove in modo che trasversalmente al moto si abbia un gradiente di velocità (p. esempio nella corona circolare compresa fra un cilindro fisso e uno rotante concentrici), le macromolecole tendono a disporsi, tanto più facilmente quanto più sono allungate, con la maggior dimensione parallela alle linee di flusso: questo fenomeno è accompagnato da una tipica doppia rifrazione accidentale, e l'entità di essa permette di giudicare del grado di orientamento. La doppia rifrazione è mancante o nettamente diversa quando la forma delle molecole non si discosta molto dalla sferica, a meno che le molecole stesse non subiscano una deformazione per effetto delle azioni idrodinamiche ⁽²⁴⁾.

La variazione di viscosità al variare del gradiente di velocità trasversale al moto è un fenomeno strettamente legato a quello della doppia rifrazione: anch'esso è riconducibile all'orientamento nel senso delle linee di flusso delle macromolecole che abbiano una dimensione molto grande rispetto alle altre. Ma esso rientra nel complesso quadro della viscosità delle soluzioni e delle sospensioni del quale converrà discutere con una certa larghezza quando verrà esposto il metodo viscosimetrico di determinazione dei pesi molecolari. Per quel che si riferisce alla influenza della forma sulla viscosità delle soluzioni, basti qui accennare che si hanno dipendenze dal peso molecolare soltanto se le molecole sono di forma molto allungata; non si ha dipendenza se le molecole sono sferiche e indeformabili.

Altre influenze della forma vedremo più avanti, discutendo dei metodi di investigazione di pesi molecolari, e strettamente legate a questi metodi.

Un esame esauriente, dal punto di vista fisico, delle grosse molecole deve perciò estendersi a determinare: il peso molecolare, ossia la grandezza; la forma esteriore in soluzione; la forma nel solido, ossia la struttura microscopica e submicroscopica degli insiemi di grosse

molecole, siano esse assimilabili a cristalli o meno.

Vedremo che alcuni metodi danno il peso molecolare indipendentemente dalla forma delle molecole, altri invece sono strettamente legati, nei loro risultati, sia al peso molecolare che alla forma; altri infine, mentre dicono ben poco relativamente al peso molecolare, permettono di ricavare informazioni preziose rispetto alla forma, per lo meno nel solido.

In quanto segue sono discussi particolarmente i metodi capaci di dare indicazioni sulla grandezza e la forma delle molecole in soluzione, mentre sono soltanto accennati quelli che si riconducono alle strutture microscopica e submicroscopica nel solido.

Metodo dell'ultrafiltrazione

Nello stesso modo che si possono trattenere su adatti mezzi filtranti le particelle di una sospensione, e, conoscendo la grandezza dei pori del mezzo filtrante, indurre la grandezza delle particelle, si può, con i così detti *ultrafiltri*, trattenere particelle che non sono più visibili al microscopio. Naturalmente il passaggio attraverso un certo ultrafiltro e il non passaggio attraverso un altro avente pori più stretti dà un intervallo di grandezza nel quale è compresa la particella trattenuta.

Gli ultrafiltri (C. I. MARTIN 1896, BECHHOLD) sono costituiti da pellicole di colloidi, di gelatina indurita con formaldeide, di cellulosa, su adatto supporto, nelle quali i pori possono avere dimensioni dell'ordine di $0,5 \div 100 \mu$ (carta da filtro dura ordinaria, pori maggiori di 1μ), e che possono ottenersi con porosità diverse a seconda del modo di preparazione. Le dimensioni dei pori non possono essere misurate che con determinazioni comparative, specialmente se si tiene presente un fenomeno caratteristico di tali membrane: la grandezza delle particelle trattenute non risulta corrispondente a quella dei pori, ma è sempre, a causa di fenomeni di adsorbimento e analoghi, una frazione di questa, fra $1/8$ e $1/5$. Questo punto, insieme a quello della determinazione della grandezza dei pori, sono le difficoltà fondamentali del metodo. Così per molecole filiformi si ha passaggio attraverso i pori anche di molecole assai più lunghe del diametro del poro stesso (²⁵). Il metodo è stato principalmente adoperato per lo studio dei « virus » filtrabili, ossia di certe sostanze capaci di trasmettere malattie ben specificate, l'agente delle quali persiste anche dopo filtrazione attraverso le ordinarie candele Chamberland di porcellana porosa (tali sono per esempio gli agenti della febbre gialla, del vaiolo, dell'influenza, della polio-

mielite, della rabbia, della peste dei polli, del sarcoma di ROUS, del mosaico del tabacco, dei cosiddetti batteriofagi). In molti casi questi agenti sono stati arricchiti nei liquidi in cui erano contenuti, purificati, con i metodi ordinari della chimica delle proteine, cristallizzati (così per il mosaico del tabacco nelle sue varie sottospecie (STANLEY), per il papilloma dei conigli (BEARD e WYCKOFF), per l'encefalomielite del cavallo (WYCKOFF)). I diversi metodi usati forniscono per tali prodotti pesi di particelle ben determinati, altissimi, che, insieme alle altre caratteristiche, li definiscono come individui chimici del tipo delle proteine, con dimensioni comprese nel campo che sta fra le proteine ben caratterizzate anche chimicamente e i più piccoli microrganismi patogeni, quale l'agente delle pleuro polmonite. Questi studi hanno fatto sorgere vivaci discussioni relativamente al considerare o meno tali molecole gigantesche come organismi viventi, dei quali possiedono alcune caratteristiche mentre mancano di altre (²⁶).

Qui mi limito a riportare alcuni risultati ottenuti con il metodo dell'ultrafiltrazione; per mezzo di esso, si ricordi, si ottiene solo una presunta *grandezza* geometrica dell'oggetto, entro limiti abbastanza ampi.

virus del vaiolo	m μ 125 \div 175
» della malattia di KIKUTH GOLLUB (canarini)	» 125 \div 175
» Herpes simplex	» 100 \div 150
» peste dei polli	» 60 \div 90
» rabbia	» 125
» influenza	» 115
» sarcoma di ROUS	» 75 \div 100
» mosaico del tabacco	» 25 \div 30
» febbre gialla	» 22
» poliomielite	» 10
» afta epizootica	» 8 \div 12
batteriofago (²⁷) dissenteria di SHIGA	» < 55
» coli	» 100
» C ₁₆ BURNET	» 50 \div 75
» D ₂₀ »	» 20 \div 30
» S ₁₃ »	» 8 \div 12

Naturalmente, se si conosce la densità apparente degli oggetti così misurati, è possibile risalire al loro peso, facendo ipotesi convenienti rispetto alla loro forma. In generale si ammette una forma sferica o ellissoidica: e per le densità, per confronto con quelle di microorganismi noti (bacillo coli 1,1, cocchi diversi 1,13) si sono assunti valori fra 1,12 e 1,15. Si deduce così il peso molecolare, per oggetti sferici, con la relazione $M = \frac{1}{6} \pi d^3 \delta \cdot 6,06 \cdot 10^{23}$. Risulta per esempio, con i valori dei diametri precedentemente dati:

virus mosaico del tabacco	$5,5 \cdot 10^6 \div 1 \cdot 10^7$
» peste dei polli	$8 \cdot 10^7 \div 2,6 \cdot 10^8$
» Herpes simplex	$3,5 \cdot 10^8 \div 1,2 \cdot 10^9$
» influenza, rabbia	$7 \cdot 10^8$
» febbre gialla	$3,8 \cdot 10^6$
» poliomielite	$3,6 \cdot 10^5$
batteriofago C ₁₆	$4,5 \cdot 10^7 \div 1,5 \cdot 10^8$
» S ₁₃	$1,8 \cdot 10^5 \div 6,2 \cdot 10^5$

Si vede qui che questi virus possono avere pesi molecolari elevatissimi, ma anche in qualche caso, pesi molecolari come quelli delle sostanze proteiniche naturali (vedi avanti) e dei polimeri grossi anche di origine artificiale (polistiroli). Per confronto, si tenga conto che i corpuscoli rossi del sangue hanno un diametro di 7500 m μ , il bacterium prodigiosum di 1000, lo stafilococco di 800, il bacillo pneumonico intorno a 500 m μ , l'albumina di 4 circa, l'ovoalbumina di 2,17 m μ .

Alcune determinazioni con metodi specialissimi hanno confermato le dimensioni sopra indicate. Per esempio, per il batteriofago del batterio coli, si è potuto valutare fra 60 e 120 m μ il diametro determinando la saturazione superficiale del coli e ammettendo uno strato molecolare di fagi sullo stesso (130 \div 140 fagi per ogni batterio coli).

Metodo della fotografia ultravioletta ed elettronica

Alcuni degli oggetti di cui la ultrafiltrazione ha fissato la grandezza hanno dimensioni di poco inferiori alla visibilità microscopica: come è noto, in un microscopio possono fornire immagini solo oggetti

la cui grandezza sia parecchie volte la semilunghezza d'onda della luce impiegata (ABBE). Così il limite per la luce visibile è intorno a $275 \text{ m}\mu$, per la luce ultravioletta intorno a $100 \text{ m}\mu$ (vedi p. es. le fotografie ultramicroscopiche di CASPERSSON ⁽²⁵⁾ relative ai cromomeri nei cromosomi). Se si può essere sicuri che si tratti di immagini e non di figure di diffrazione, la dimensione degli oggetti fotografici dà un limite per la dimensione degli oggetti. Con questo sistema BARNARD ⁽²⁶⁾ ha potuto determinare le dimensioni di alcuni dei virus più grandi, come segue:

vaiolo	$160 \div 170 \text{ m}\mu$
KIKUTH GOLLUB	$160 \div 170 \text{ »}$
peste dei polli	$70 \div 110 \text{ »}$

in sufficientemente buon accordo con i risultati precedentemente riportati dell'ultrafiltrazione.

Le molecole lineari hanno lunghezze assai volte ben superiori al limite di visibilità (fibroina almeno $900 \text{ m}\mu$, cellulosa fino a $1 - 1,5 \mu$, polistiroli fino a 3μ). Ma per le piccole dimensioni trasversali, non superiori a $1 \text{ m}\mu$, gli oggetti rimangono ugualmente completamente invisibili.

Risultati più precisi si possono avere impiegando il microscopio elettronico, con il quale l'ingrandimento può essere spinto a valori estremamente elevati: come esempio si ha quello del vaiolo, che mostra con molta nettezza, con ottica elettronica capace di ingrandire 23000 volte, dimensioni $250 \div 300 \text{ m}\mu$ ossia alquanto superiori a quelle valutate da BARNARD, e forma non perfettamente sferica.

Analogamente il virus del mosaico del tabacco (ingrandimento 20.000) appare come un corpicciuolo di circa $15 \text{ m}\mu$ di diametro, e $150 \div 300 \text{ m}\mu$ di lunghezza, perciò molto allungato rispetto al diametro ⁽³⁰⁾. Da questi dati si vede chiaramente come siano solamente di larga approssimazione i dati ottenuti dalla ultrafiltrazione, con l'ammissione di particelle sferiche o quasi sferiche (diametro $25 \div 30 \text{ m}\mu$). Calcolando come precedentemente il peso molecolare del mosaico del tabacco da questi dati, si ottiene un valore da $1,8 \cdot 10^7$ a $3,6 \cdot 10^7$ molto vicino a quello ottenuto per mezzo dell'ultracentrifuga, e discosto da quelli ottenuti per ultrafiltrazione.

Il limite di separazione del microscopio elettronico attualmente è intorno $10 \text{ m}\mu$; si vede di qui quale potente mezzo di visione della grandezza delle sostanze a grossissimo peso molecolare (virus, proteine, ecc.) esso può divenire.

Metodo della diffusione

E' noto che, se si indica con c la concentrazione di una certa sostanza in un solvente nello strato avente per coordinata x , la quantità di sostanza dS che diffonde nella direzione x attraverso la superficie Ω ortogonale ad x è data da

$$(26) \quad \frac{\partial S}{\partial t} = - D \Omega \frac{\partial c}{\partial x},$$

e la variazione di concentrazione nel tempo da

$$(27) \quad \frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}.$$

Il coefficiente D si chiama *costante o coefficiente di diffusione*.

Se si riesce a mantenere costante nel tempo il gradiente di concentrazione $\frac{\partial c}{\partial x}$ (e in tal caso il processo è stazionario, in ciascun punto della colonna diffondente la concentrazione rimane costante nel tempo), la misura di D si ha attraverso la determinazione della *quantità* diffusa in un certo periodo di tempo (p. es. un giorno).

Se si utilizza un volume limitato di soluzione, ma si ammette che la velocità di diminuzione della concentrazione sia tanto piccola che praticamente sia sempre lineare la variazione di concentrazione attraverso lo strato diffondente, e perciò la prima relazione si possa scrivere

$$(28) \quad V \frac{dc}{dt} = - D \Omega \frac{c - c_0}{s}$$

(V volume della soluzione di concentrazione c , c_0 concentrazione della soluzione verso la quale avviene la diffusione, s spessore dello strato diffondente), risulta, se si fa $c_0 = 0$ (diffusione nel solvente puro)

$$(29) \quad D = \frac{Vs}{\Omega} \frac{\ln c_1 - \ln c_2}{t_2 - t_1}.$$

In essa c_2 e c_1 sono le concentrazioni ai tempi t_2 e t_1 .

Tale è il metodo usato da FICK⁽³¹⁾, da STEFAN⁽³²⁾ e da altri, con l'impiego di colonne cilindriche di diffusione. Ad esso corrisponde anche il cosiddetto metodo della dialisi di NORTHROP e ANSON⁽³³⁾ e di BRINTZINGER e collaboratori⁽³⁴⁾. I primi impiegano come strato in cui avviene la diffusione una piastra di vetro porosa, i secondi una membrana

porosa di cellulosa: così la distanza lungo la quale avviene la diffusione è estremamente piccola, mentre ai due lati della membrana o della piastra le concentrazioni possono essere mantenute uniformi con agitazione, e il tempo necessario per la prova diviene assai breve. Il metodo della dialisi non fornisce il coefficiente di diffusione ma un coefficiente di dialisi λ , dipendente dalla specifica membrana usata: è quindi un metodo di confronto, nel quale si ammette proporzionalità per composti analoghi o per ciascuna membrana, e per identiche circostanze di esperienza, fra λ e D .

Come hanno mostrato JANDER e SPANAU (³⁵), sono necessarie membrane a pori grandi rispetto alle molecole che devono diffondere, altrimenti i risultati sono falsi (³⁶).

Per molecole grosse perciò è meglio utilizzabile la piastra di vetro porosa di NORTHROP e ANSON. E per molecole non sferiche i risultati non hanno significato (³⁷).

Se non si può mantenere costante il gradiente, specialmente quando l'esperienza richiede un tempo molto lungo, conviene ricorrere alla seconda espressione della legge di diffusione, e determinare la concentrazione c_z dopo un certo tempo t ad una distanza z dalla linea limitante lo strato diffondente, di concentrazione c_0 al tempo iniziale. Se si introduce la variabile ausiliaria adimensionale

$$(30) \quad y = \frac{z}{2\sqrt{Dt}},$$

la concentrazione c_z risulta

$$(31) \quad c_z = \frac{c_0}{2} \left(1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^y e^{-y^2} dy \right).$$

La determinazione di c_z perciò permette di risalire a y (l'integrale definito è tabulato, perchè è la ben nota funzione di GAUSS), e quindi alla costante di diffusione.

I metodi risalgono qui a quello di OEHOLM, a quello perfezionato di COHEN e BRUINS (³⁸) nei quali si determina, dopo un certo tempo, la concentrazione media di diversi strati della soluzione (⁴⁰), o a quello microscopico di FURTH (⁴¹) che segue la posizione (durante la diffusione) dello strato avente una certa concentrazione prefissata, oppure fissando, per mezzo della fotografia, la distribuzione di concentrazione ad un dato istante (l'assorbimento di una certa luce è funzione della concentrazione). Grosse difficoltà sono in ogni caso derivate dal lunghissimo tempo necessario per le esperienze (da qualche giorno a

molte settimane) tanto maggiore quanto più grande è il peso molecolare.

Non conoscendo esattamente il tempo iniziale del fenomeno, conviene fissare un certo valore di c_z e quindi un certo valore di y , e, per due tempi diversi t_0 e t_1 , le distanze z_0 e z_1 , cui compete tale concentrazione. Si ha allora immediatamente

$$(32) \quad D = \frac{1}{4 y^2} \frac{z_1^2 - z_0^2}{t_1^2 - t_0^2}.$$

In questo modo TISELIUS e GROSS⁽⁴²⁾ hanno trovato le seguenti costanti di diffusione in acqua a 20° ($10^7 \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$):

fucoeritrina	4,0
fucociano	4,05
carbossiemo globina	6,3
emocianina (Helix)	1,05
ovoalbumina	7,7.

Altri dati sono i seguenti (HERZOG, GROH⁽⁴³⁾):

ovoalbumina	5,2	a 7°,75
»	5,2	a 8°
pepsina	7,3	a 12°
emulsina	4,2	a 15°,3.

La costante di diffusione è legata al peso molecolare, per sostanze chimicamente simili, dalla regola empirica di EULER e RIECKE: $D\sqrt{M} = \text{cost.}$ per pesi molecolari piccoli. Per particelle sferiche essa è legata al raggio di queste attraverso la formula (di EINSTEIN)

$$(33) \quad D = \frac{RT}{6\pi\eta rN},$$

essendo η la viscosità del solvente, r il raggio, N il numero di AVOGADRO; e poichè il peso molecolare M è dato da

$$(34) \quad M = \frac{4}{3} \pi r^3 N \varphi,$$

essendo φ il peso specifico, risulta

$$(35) \quad M = \frac{R^3 T^3 \varphi}{162 \pi^2 N^2 \eta^3 D^3},$$

ossia

$$(36) \quad \frac{D^3 M}{\rho} = \text{cost.}$$

nello stesso solvente e alla stessa temperatura.

Tenendo conto dei dati precedenti, supponendo le particelle sferiche e le densità intorno a 1,1, risultano i valori seguenti:

fucoeritrina	421000
fucociano	405000
carbossiemo globina	108000
emocianina (Helix)	23200000
ovoalbumina	59200
»	62000
»	30000
pepsina	34300
emulsina	244000

Vedremo che per alcune di queste sostanze il P. M. così determinato non corrisponde a quello ottenuto con altri metodi. La non concordanza probabilmente dipende dalla forma, che si discosta da quella sferica e da una non perfetta conoscenza della dipendenza fra grandezza e il coefficiente D .

Si noti inoltre la sensibilità del P. M. a piccoli errori di D e quindi la poca convenienza di impiego del metodo per la determinazione del P. M. Comunque esso non è direttamente impiegabile per sostanze con molecole di forma nettamente diversa da quella sferica e di pesi molecolari non unici.

La determinazione del coefficiente di diffusione è necessaria poi per uno dei metodi con l'ultracentrifuga.

Metodi osmotici

I metodi osmotici, nelle forme semplificate della crioscopia e della ebullioscopia, sono quelli più comunemente usati per la determinazione dei pesi molecolari relativamente piccoli. Essi non sono utilizzabili nel caso dei pesi molecolari molto grandi sia perchè gli effetti sono troppo piccoli (ebullioscopia), sia perchè sono temibili le formazioni

di fasi miste, gli impedimenti di cristallizzazione e quindi la cristallizzazione molto lenta (crioscopia) ⁽⁴⁴⁾.

I risultati che si ottengono non sono in accordo con quelli dovuti agli altri metodi.

Si è perciò costretti ad impiegare il metodo della effettiva misura della pressione osmotica o dell'abbassamento della tensione di vapore delle soluzioni rispetto al solvente.

Anche qui però sono necessarie cautele speciali.

La determinazione della tensione di vapore delle soluzioni può eseguirsi con il metodo della *distillazione isoterma*, per mezzo del quale si misura la differenza di pressione necessaria perchè non si abbia più distillazione dalla soluzione al solvente puro e viceversa ⁽⁴⁵⁾: in esso lo strato riempito di vapore fra soluzione e solvente funziona come una membrana semipermeabile ideale, assolutamente invalicabile dal soluto. Purtroppo il tempo necessario per raggiungere le condizioni di equilibrio è estremamente lungo (3 — 4 mesi). E' stato sviluppato ⁽⁴⁶⁾, per evitare tale inconveniente (specialmente grave se il soluto si altera rapidamente) un metodo derivato da una esperienza di ASKENASY, utilizzando una piastra porosa di vetro o di gesso (ASKENASY), che fissa il limite della soluzione, e determinando la *velocità* di distillazione dalla soluzione del solvente o viceversa con diverse differenze *imposte* di pressione, in assenza di gas estranei (FRAZER e PATRICK, ULMANN). E' facile estrapolare a velocità nulla di distillazione, cui corrisponde una differenza di pressione eguale alla pressione osmotica cercata.

L'impiego di membrane semipermeabili permette la misura diretta della pressione osmotica. Si può presentare qui qualche difficoltà circa la membrana adatta, specialmente in solventi organici, ma membrane di cellulosa a pori sottili sembrano adatte. Anche il materiale costituente l'apparecchio deve essere considerato in relazione al prodotto esaminato: così per acidi poliacrilici l'osmometro deve essere di ebanite o di polistiroli, perchè i metalli forniscono ioni che falsano le determinazioni.

Gli osmometri impiegati sono generalmente del tipo di DONNAN a membrana piana tesa ⁽⁴⁷⁾.

La pressione è stabilita quando la lettura rimane costante per almeno due giorni: il tempo necessario per giungere all'equilibrio è di qualche giorno (SCHULZ); la conferma che si tratti di un vero equilibrio si ha se coincidono i risultati ottenuti partendo con il menisco sopra o sotto la posizione d'arresto.

Diverso da questo metodo statico è quello dinamico consistente nell'applicare una contropressione determinata, nel determinare le velocità di deflusso del liquido attraverso la membrana per diverse

differenze di pressione e nell'estrapolare a velocità nulla (⁴³).

Una delle circostanze che sono caratteristiche dell'impiego di questi metodi con sostanze ad alto peso molecolare è, in molti casi, la non linearità della pressione osmotica al crescere della concentrazione della soluzione. Le pressioni osmotiche crescono più rapidamente delle concentrazioni specialmente se si tratta di molecole di forma non sferica, svelando le influenze reciproche fra molecola e molecola. Poichè quanto più è diluita la soluzione tanto più si ha la sicurezza che le molecole sono libere di esplicare la loro azione, la legge di VAN'T HOFF

$$(37) \quad p = \frac{RTc}{M} \quad , \quad M = \frac{RTc}{p}$$

può essere applicata solo nella forma limite

$$(38) \quad M = \frac{RT}{\lim_{c \rightarrow 0} \frac{p}{c}} \quad ,$$

ossia determinando il valore cui tende il rapporto fra pressione osmotica e concentrazione al tendere di questa a 0.

Ma per sostanze ad altissimo peso molecolare, la determinazione di questo limite da una serie di esperienze è molto incerta: la deviazione della linearità è già forte per concentrazioni piccolissime, per le quali la pressione osmotica è appena di qualche millimetro di colonna di solvente. L'errore che si può commettere nell'estrapolazione è notevole (⁴⁹).

SCHULZ (⁵⁰) ha ammesso che la pressione osmotica segua una legge modificata del tipo dell'equazione di VAN DER WAALS semplificata:

$$(39) \quad p = \frac{RTc}{M(1 - b)} \quad ,$$

essendo b una specie di covolume. Introducendo il covolume specifico s , relativo a 1 grammo di soluto secco (c concentrazione in grammi per litro), l'equazione si può scrivere:

$$(40) \quad p = \frac{RTc}{M(1 - cs)} \quad .$$

Ora s diminuisce al crescere della concentrazione e quindi della pressione osmotica. Si ammette che la relazione fra s e p sia del tipo di una pressione di rigonfiamento:

$$(41) \quad p = ks^{-\frac{1}{v}} \quad (\text{FREUNDLICH e POSNIAK})$$

Ciò corrisponde ai dati sperimentali per sostanze di peso molecolare non eccessivo: per esse la determinazione dalle misure osmotiche, per extrapolazione, del peso molecolare è sufficientemente precisa; e con tali valori di M è possibile calcolare s in funzione di p . Si trova che la relazione fra $\log s$ e $\log p$ è lineare, corrispondentemente alla (41), e, per sostanze omologhe, la stessa.

Perciò risulta

$$(42) \quad M = \frac{RTc}{p \left\{ 1 - c \left(\frac{k}{p} \right)^v \right\}}$$

senza bisogno di passare a limiti per extrapolazione.

Naturalmente occorre la conoscenza di k e di v : questa si può ottenere in una serie omologa di composti, ricavandola dai termini a più basso peso molecolare, per i quali o M è noto per altra via o è facilmente extrapolabile dalle misure osmotiche. La formula può poi essere applicata ai termini elevati della serie.

Vedremo ripetuto questo procedimento per il metodo di viscosità ⁽⁵¹⁾.

Con il metodo osmotico si sono determinati pesi molecolari elevatissimi, come si può vedere dai dati seguenti:

	M		
acetilcellulosa	20000 ÷	100000	⁽⁵²⁾
	27000 ÷	80000	⁽⁵³⁾
nitrocellulosa	19000 ÷	200000	⁽⁵⁴⁾
		100000	⁽⁵⁵⁾
	51000 ÷	443000	⁽⁵⁶⁾
metilcellulosa	46000 ÷	82000	⁽⁵⁶⁾
caucciù	100000 ÷	200000	⁽⁵⁷⁾
polistiroli	82000 ÷	638000	⁽⁵⁸⁾
		720000	⁽⁵⁸⁾
		850000	⁽⁵⁹⁾
glicogeno metilato	273000 ÷	830000	⁽⁶⁰⁾
glicogeno acetilato	1300000 ÷	3500000	⁽⁶⁰⁾
amido metilato		125000	⁽⁶⁰⁾
lichenina acetilata	36000 ÷	118000	⁽⁶⁰⁾
gomma arabica	150000 ÷	280000	⁽⁴⁹⁾

Metodi dell'ultracentrifuga

Questi metodi, che in realtà misurano velocità di sedimentazione o equilibri di sedimentazione di particelle, assumono il nome dallo strumento tipico che ha reso possibile la loro estensione al caso delle particelle di dimensioni molecolari. E' noto che il peso di particella è stato determinato, ammessa la conoscenza della resistenza al moto nel fluido e della densità del fluido e della particella, con la misura della velocità di sedimentazione in un liquido o in un gas (PERRIN, MILLIKAN, WESTGREN, ecc.), oppure della distribuzione di equilibrio (PERRIN, WESTGREN) sotto l'azione del campo gravitazionale: così PERRIN per es., è giunto, nota la grandezza delle particelle, alla determinazione del numero di AVOGADRO.

Ma il metodo, nel campo gravitazionale, è limitato a sospensioni grossolane, a particelle grandissime. Per lo studio dei colloidali, si è pensato all'azione del campo centrifugo (DUMANSKY 1913), senza risultati soddisfacenti dapprima, principalmente per l'azione disturbante di correnti convettive nel liquido. Ma in seguito alle esperienze e agli studi di SVEDBERG e collaboratori (dal 1923) si è giunti a stabilire le condizioni per ottenere risultati senza incertezze e a costruire macchine nelle quali la sedimentazione avveniva in campi sempre più intensi: da accelerazioni 150 volte la gravità (1923) si è giunti a 5000 (1924), a 19.000 (1924), a 100.000 (1927), a 165.000 (1929), 200.000 (1931), 300.000 (1932), 400.000 (1933), 600.000 (1933), 750.000 (1934), con un massimo di 900.000 (1934) (non più usato perchè il rotore, troppo fortemente sollecitato, è esploso dopo poche prove). In un tipo di concezione diversa si sono raggiunte accelerazioni di 260.000 volte la gravità ⁽⁶¹⁾.

L'ultracentrifuga è schematicamente costituita da un rotore perfettamente bilanciato, che porta su un diametro due fori simmetrici, in ciascuno dei quali viene sistemata una cella di sedimentazione; questa è costituita da una stretta cameretta, visibile nel senso dell'asse del rotore perchè terminata da due dischi di quarzo, e limitata da due pareti dirette come piani radiali del rotore. La sezione della cameretta perciò, con un piano perpendicolare all'asse del rotore, è trapezoidale, cosicchè la sezione cresce allontanandosi dall'asse stesso. Sono così evitate le correnti parassite riscontrate nelle celle a sezione rettangolare, dipendenti dal non essere le traiettorie delle particelle adiacenti alle pareti parallele alle pareti stesse. Il rotore è posto in movimento con diversi dispositivi (ingranaggi, turbine ad olio, turbine

ad aria, ecc.) che permettono di raggiungere numeri di giri elevatissimi, limitati soltanto dalla resistenza meccanica del rotore, tanto maggiori quanto minore è il diametro di questo (fino a 660.000 giri al minuto (HENRIOT e HUGUENARD) con un rotore di 11,7 mm di diametro). Naturalmente se il numero dei giri elevato porta accelerazioni elevatissime, il diametro molto piccolo invece porta ad errori forti nella misura; in modo che SVEDBERG si è fissato su rotori di circa 180 mm di diametro con circa $50.000 \div 60.000$ giri al primo, quali quelli capaci di contemperare nel modo migliore le esigenze meccaniche e quelle della misura.

Con tale rotore il raggio di rotazione medio della cella risulta 65 mm e le dimensioni della cella 12 mm di lunghezza e da 13 a 19 di profondità di sedimentazione.

Particolare cura occorre per la misura ed il mantenimento della temperatura (in atmosfera di H_2 a pressione ridotta).

L'osservazione viene fatta per via fotografica durante il movimento, secondo due metodi diversi, di assorbimento e di rifrazione. Secondo il primo la concentrazione della sostanza disciolta in ciascuno strato viene determinata per mezzo dell'assorbimento di una certa luce; nel secondo metodo si sfrutta la variazione d'indice di rifrazione della soluzione per le diverse concentrazioni, e questo sia con l'utilizzazione del metodo di TOEPLER (spostamento dell'immagine di una fessura), sia con la misura della deformazione di una scala lineare fotografata attraverso lo strato sedimentante: naturalmente, mentre questo secondo sistema permette la misura sia di equilibrio che di velocità di sedimentazione, il primo, che deve essere impiegato punto per punto, è adatto solo a determinazioni di equilibrio, tranne che se si limita alla sola individuazione della posizione istantanea del menisco.

Il metodo dell'assorbimento della luce, per fotometria fotografica, dà la *concentrazione* di sostanza assorbente in ciascun punto: il metodo di deformazione della scala dà invece il *gradiente* di *concentrazione* in ciascun punto, perchè la deformazione è proporzionale al gradiente di indice di rifrazione che è a sua volta proporzionale alla concentrazione.

Sarà sufficiente qui esporre i risultati elementari circa l'andamento e l'equilibrio di sedimentazione d'una sostanza, rinviando alle opere più complete per la trattazione esatta del problema (⁶²).

Se si indica con W il volume specifico parziale del corpo disciolto, ρ la densità della soluzione, T la temperatura assoluta durante la sedimentazione, $R = 8,313 \cdot 10^7$ la costante dei gas, c_1 e c_2 le concentrazioni in due strati distanti x_1 , x_2 dall'asse di rotazione nelle condizioni di equilibrio fra sedimentazione e diffusione, ω

la velocità angolare di rotazione, il peso molecolare risulta dato da

$$(43) \quad M = \frac{2RT \ln \frac{c_2}{c_1}}{(1 - W\rho) \omega^2 (x_2^2 - x_1^2)} .$$

Questa formula, riferentesi alle condizioni di equilibrio di sedimentazione, può essere dedotta per via cinetica o anche per via termodinamica. Essa, e il metodo corrispondente, sono particolarmente adatti nel caso di sostanza unica: allora la costanza dei valori di M ricavati per diverse coppie x , c è un buon criterio per l'unicità della sostanza e del suo peso molecolare; se si ha una miscela di pesi molecolari, risulta una dipendenza di M da x , dalla quale si può risalire alla distribuzione di pesi molecolari.

Corrispondentemente, per una sostanza monodispersa, e in una cella con forma a settore, la concentrazione, all'equilibrio, nello strato x , è data da

$$(44) \quad c_x = c_0 \frac{MA(b^2 - a^2) e^{-MA(b^2 - x^2)}}{1 - e^{-MA(b^2 - a^2)}}$$

dove c_0 è la concentrazione iniziale uniforme, b la distanza dall'asse di rotazione al fondo della cella, a quella dall'asse al menisco, x quella dall'asse allo strato considerato, e A la costante

$$(45) \quad \frac{(1 - W\rho) \omega^2}{2RT} .$$

Si ricava di qui

$$(46) \quad \frac{dc_x}{dx} = 2MA x c_x .$$

Il metodo dell'assorbimento di luce dà, fotograficamente, i valori di c per ciascun x , da cui è agevole ricavare M con la (43), per coppie di valori, oppure con la (46) usando la c_x e il suo gradiente in un dato strato x .

Se si ha un sistema polidisperso, ogni specie molecolare si distribuisce secondo il suo equilibrio; e se l'assorbimento o l'indice di rifrazione e il volume specifico sono indipendenti dal peso molecolare (riferiti all'unità di peso del soluto), la concentrazione in uno strato risulta la somma di tutte le concentrazioni nello stesso strato delle diverse specie molecolari, i :

$$(47) \quad c_x = \Sigma c_{xi} = A(b^2 - a^2) \Sigma \frac{c_{oi} M_i e^{-AM_i(b^2 - x^2)}}{1 - e^{-AM_i(b^2 - a^2)}} .$$

Di qui risulta:

$$(48) \quad \frac{dc_x}{dx} = 2A x \sum c_{xi} M_i ,$$

e quindi il peso molecolare medio secondo la (46) nello strato x

$$(49) \quad M_{m,x} = \frac{1}{2A x c_x} \cdot \frac{dc_x}{dx} = \frac{\sum M_i c_{xi}}{\sum c_{xi}}$$

per sostituzione dei valori $\frac{dc}{dx}$ della (48) e di $c_x = \sum c_{xi}$.

Se si impiega il metodo della rifrazione, la deformazione della scala fornisce un valore proporzionale a $\frac{dc_x}{dx}$. Si hanno così i valori da introdurre nella (43) attraverso la (46):

$$(50) \quad c_x = \frac{1}{2MA} \frac{1}{x} \cdot \frac{dc_x}{dx} ,$$

e risulta

$$(51) \quad M = \frac{2RT \ln \frac{x_1 \left(\frac{dc}{dx} \right)_2}{x_2 \left(\frac{dc}{dx} \right)_1}}{(1 - W_2) \omega^2 (x_2^2 - x_1^2)} .$$

Oppure, per derivazione dalla (46) risulta

$$(52) \quad \frac{d}{dx} \left(\frac{dc}{x} \right) = 2MA \frac{dc}{dx} ,$$

da cui

$$(53) \quad M = \frac{1}{2A} \frac{\frac{d}{dx} \left(\frac{1}{x} \frac{dc}{dx} \right)}{\frac{dc}{dx}} ,$$

nella quale si può introdurre direttamente la deformazione della scala al posto di $\frac{dc}{dx}$.

Per i sistemi polidispersi, ragionando come precedentemente, risulta il peso molecolare medio dello strato x

$$(54) \quad M_{mx} = \frac{1}{2A} \frac{\frac{d}{dx} \left(\frac{1}{x} \frac{dc}{dx} \right)}{\frac{dc}{dx}} = \frac{\sum M_i^2 c_{xi}}{\sum M_i c_{xi}} .$$

Come è già stato fatto notare, i due metodi di misura forniscono, per sistemi polidispersi, valori medi differenti.

Il metodo della velocità di sedimentazione fornisce immediatamente una visione del grado eventuale di dispersità del sistema: difatti si vengono ad avere tanti menischi quante sono le specie, omogenee rispetto al peso molecolare, presenti. In esso si osserva la velocità con la quale il menisco dello strato sedimentante si sposta nella cella. Se è f il coefficiente di attrito per grammolecola e t il tempo, si ha immediatamente

$$(55) \quad M(1 - W\varphi) = f \frac{\frac{dx}{dt}}{\omega^2 x} ,$$

dove $\frac{dx}{dt}$ è la velocità con la quale si muove una particella nel campo centrifugo e quindi anche il menisco. Ma durante la centrifugazione, la diffusione operante in senso contrario alla sedimentazione rende poco netto il menisco: è facile vedere dalle equazioni della diffusione che per la posizione x del menisco deve essere presa quella nella quale la concentrazione è la metà della concentrazione esistente dove essa non è variata. Se la cella è a forma di settore, si deve tener conto che anche questa concentrazione varia, e precisamente secondo la relazione $c_i x_i^2 = \text{costante}$.

Definite con due successive fotografie ai tempi t_1 e t_2 le posizioni x_1 e x_2 del menisco, l'equazione diviene per integrazione

$$(56) \quad M(1 - W\varphi) = f \frac{\ln \frac{x_2}{x_1}}{\omega^2 (t_2 - t_1)} .$$

Poichè per soluzioni diluite nei fenomeni di diffusione la costante d'attrito è data da

$$(57) \quad f = \frac{RT}{D} ,$$

dove D è la costante di diffusione, se si ammette che lo stesso va-

lore valga anche durante la sedimentazione, risulta:

$$(58) \quad M = \frac{RT}{(1-W_2)D} \frac{\ln \frac{x_2}{x_1}}{\omega^2 (t_2 - t_1)} = \frac{1}{AD} \frac{\ln \frac{x_2}{x_1}}{t_2 - t_1} .$$

Il metodo richiede perciò la conoscenza della costante di diffusione. In mancanza di essa, spesso viene dato soltanto il valore

$$(59) \quad s = \frac{1}{\omega^2 x} \frac{dx}{dt}$$

o *costante di sedimentazione*, che dà già una certa indicazione intorno ai pesi molecolari.

Naturalmente D può essere calcolata, dai dati della stessa ultracentrifugazione, per mezzo dell'andamento dei valori di concentrazione nello strato del menisco, ma con limitata precisione.

Se poi si ammette sferica la molecola, D può essere espressa in funzione di M con la formula di EINSTEIN (33), e dalla costante di sedimentazione si può risalire al peso molecolare.

Per sistemi contenenti varie specie molecolari, per ciascuna si viene a formare un menisco che si muove con velocità differente: è quindi immediata, come si è detto, l'analisi della polidispersità.

Dal peso molecolare ottenuto con i precedenti metodi si può calcolare il valore del coefficiente di attrito per il caso di molecole sferiche e non solvate (⁶³):

$$(60) \quad f_0 = 6\pi\eta N \left(\frac{3MW}{4\pi N} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (\text{STOKES}).$$

Il rapporto fra il valore di f ricavabile dal coefficiente di diffusione (indipendente dalla forma e dalla solvatazione) e questo f_0

$$(61) \quad \frac{f}{f_0}$$

è un indice, col suo eventuale scostamento da 1, dello scostamento dalla forma sferica o di una solvatazione. Il metodo perciò può dare qualche notizia relativamente alla non simmetria delle molecole; sono state dedotte relazioni fra tale rapporto e la forma geometrica di esse (⁶⁴).

Questo stesso problema interviene nell'interpretazione dei fenomeni di viscosità per le molecole di forma diversa dalla sferica.

Altra difficoltà interviene quando si hanno molecole filiformi, aventi in una direzione dimensioni comparabili con quelle della mo-

lecola del solvente (polistirolo in benzolo): in tal caso può aversi uno scorrimento del soluto rispetto al solvente, ossia una velocità di sedimentazione maggiore di quella che si dovrebbe avere in un solvente considerabile come un mezzo continuo.

Prescindendo da questo fatto, se la molecola filiforme è avvolta a gomito di forma rotondeggiante, la sedimentazione avverrà come per un oggetto delle stesse dimensioni, con trasporto del solvente, e quindi con una effettiva densità minore di quella delle molecole filiformi. Se la molecola è diritta si è calcolato il valore che assume la costante di sedimentazione s ⁽⁶⁵⁾ in funzione del rapporto fra lunghezza e diametro: naturalmente per molecole alquanto avvolte e piegate i risultati sono intermedi fra questi ultimi e quelli per molecole aggomitolate.

I metodi dell'ultracentrifuga hanno fornito numerosissimi dati sui pesi molecolari di svariatissime sostanze naturali e artificiali, particolarmente di proteine.

I risultati per queste ultime, che forniscono pesi molecolari ben determinati e costanti in moltissimi casi, e raggruppantisi, per proteine diverse, intorno a valori medi nettamente differenziati, hanno permesso di dedurre che in generale le proteine sono costituite da individui di peso rigorosamente uguale, ossia sono delle sostanze chimiche perfettamente definite; e inoltre che le molecole di proteina sono costruite in modo che si riscontrano in natura soltanto pesi molecolari multipli di un certo peso unitario. Secondo SVEDBERG, cui risale (1928-29) l'ipotesi dei multipli, « la molecola della proteina è costruita verosimilmente per successiva aggregazione d'unità definite, ma soltanto pochi fra gli aggregati sono stabili. Quanto più grande è il peso molecolare, tanto meno numerose sono le possibilità di aggregazione stabili. Perciò le distanze fra le molecole capaci di esistere divengono sempre maggiori man mano che il peso aumenta». Ripetutamente discusse sono state le diverse ipotesi fatte per spiegare il fenomeno ⁽⁶⁶⁾.

Ciascuna proteina è soggetta, al variare del pH, a fenomeni di associazione e dissociazione, e il peso molecolare in genere è ben definito in un certo intervallo intorno al punto isoelettrico: al di fuori si formano nuove molecole con pesi che sono frazioni ($1/2$, $1/4$, $1/8$) del peso originario.

Nella tabella seguente ⁽⁶⁷⁾ sono riuniti dati relativi a proteine disposte in ordine di peso molecolare crescente:

M	P R O T E I N A	W_{20}^{20}	$S_{20}^{20} \cdot 10^{13}$	$D_{20}^{20} \cdot 10^7$	$M_{vel.}$	$M_{eq.}$	$\frac{f}{f_0}$
17600	Eritrocrorina (<i>Lampetra fluviatilis</i>)	0.751	1.87	10.7	17.100	19.100	1.16
	Lactalbumina	0.751	1.9	10.6	17.400		1.16
	Citocromo c	0.707	1.9	10.1	15.600	17.500	1.29
	Mioglobina	0.741	2.04	11.3	16.900		1.11
	Gliadina	0.722	2.1	6.72	27.500	27.500	1.60
	Ordeina	0.729	2.0	6.5	27.500		1.64
35200 = = 2 · 17600	Zeina	0.71	1.9	4.0	40.000		2.4
	Eritrocrorina (<i>Arca pexata</i>)	0.751	3.46			33.500	0.99
	Eritrocrorina (<i>Chironomus plumosus</i>)	0.751	2.0			31.500	1.63
	Lactoglobulina	0.751	3.12	7.3	41.500	38.000	1.26
	Pepsina	0.750	3.3	9.0	35.500	39.000	1.08
	Insulina	0.749	3.5	8.2	41.000	35.000	1.13
	Ovoalbumina	0.749	3.55	7.8	44.000	40.500	1.16
	Crotossina	0.704	3.14	8.6	30.000	30.500	1.22
70400 = = 4 · 17600	Emoglobina (<i>Equus caballus</i>)	0.749	4.41	6.3	68.000	68.000	1.24
	Emoglobina (<i>Homo</i>)	0.749	4.48	6.9	63.000		1.16
	Sieroalbumina (<i>Equus</i>)	0.748	4.46	6.1	70.000	68.000	1.27
	Fermento giallo di Warburg	0.731	5.76	6.3	82.000	78.000	1.17
	Tossina difterica	0.75	4.6	6.2	72.000		
105600 = = 6 · 17600	Concanavalina A (<i>Canavalia ensiformis</i>)	0.73	6.0	5.6	96.000		1.26
	Canavalina (<i>Canavalia ensiformis</i>)	0.73	6.4	5.1	113.000		1.31
140800 = = 8 · 17600	Steroglobulina (<i>Equus</i>)	0.745	7.1	4.05	167.000	150.000	1.44
	Steroglobulina (<i>Homo</i>)	0.745	7.1	3.84	176.000		1.49
	Steroglobulina antipneumococcica (<i>Homo</i>)	0.745	7.4	3.60	195.000		1.53
	Fucociano (<i>Ceramium rubrum</i> , comp. di scissione)	0.746	6.2	4.58	130.000	146.000	1.38

M	P R O T E I N A	W_{sup}	$S_{sup} \cdot 10^{13}$	$D_{20p} \cdot 10^7$	$M_{vel.}$	$M_{eq.}$	$\frac{f}{f_0}$
282000 = = 16 · 17600	Fucoeritina (<i>Ceramium rubrum</i>)	0.746	12.0	4.00	290.000	290.000	1.21
	Fucociano (<i>id. id.</i> componente principale)	0.746	11.4	4.05	270.000	275.000	1.22
	Edestina	0.744	12.8	3.93	310.000		1.21
	Excelsina	0.743	13.3	4.26	295.000		1.13
	Amandina	0.746	12.5	3.62	330.000	330.000	1.28
	Catalasi	0.73	11.3	4.1	250.000		1.25
422000 = = 24 · 17600	Emocianina (<i>Pandalus borealis</i>)	0.740	17.4		450.000	400.000	1.07
	Emocianina (<i>Palinurus vulgaris</i>)	0.740	16.4	3.4	500.000	450.000	1.23
	Emocianina (<i>Helix pomatia</i> , comp. di scissione)	0.738	12.1	2.23	480.000		1.81
	Ureasì	0.73	18.6	3.46			1.19
634000 = = 36 · 17600	Tiroglobulina (<i>Sus</i>)	0.72	19.2	2.65	630.000	650.000	1.43
	Emocianina (<i>Nephrops norvegicus</i>)	0.740	24.5	2.79	820.000		1.23
845000 = = 48 · 17600	Emocianina (<i>Homarus vulgaris</i>)	0.740	22.6	2.78	760.000	800.000	1.27
	Emocianina (<i>Helix pomatia</i> , comp. di scissione)	0.738	16.0	2.06	720.000	800.000	1.74
	Globulina antipneumococcica (<i>Equus</i>)	0.715	19.3	1.80	910.000		1.86
	Globulina antipneumococcica (<i>Sus</i>)	0.715	18.0	1.64	930.000		2.02
1690000 = = 96 · 17600	Eritroeritrina (<i>Planorbis cornuus</i>)	0.745	33.7	1.96	1.630.000	1.540.000	1.39
	Emocianina (<i>Calocaris macandrayae</i>)	0.740	34			1.330.000	1.22
3380000 = = 192 · 17600	Emocianina (<i>Octopus vulgaris</i>)	0.740	49.3	1.65	2.800.000		1.38
	Emocianina (<i>Fledone moschata</i>)	0.740	49.1	1.64	2.800.000		1.39
	Eritroeritrina (<i>Arenicola marina</i>)	0.740	57.4	1.58	3.300.000	3.000.000	1.25
	Emocianina (<i>Rossia owenii</i>)	0.740	56.2	1.81	3.150.000	2.950.000	1.36
6760000 = = 384 · 17600	Eritroeritrina (<i>Lambricus terrestris</i>)	0.740	60.9				1.21
	Emocianina (<i>Helix pomatia</i> , comp. principale)	0.738	98.9	1.38	6.600.000	6.700.000	1.24
	Emocianina (<i>Busycon</i> , componente principale)	0.738	101.7	1.38	6.800.000		1.23
	Virus Bushy-Stunt	0.739	146	1.17	10.000.000	7.600.000	1.09
	Emocianina (<i>Busycon</i> , prod. d'aggregazione)	0.738	130				

Come si vede dall'ultima colonna, f/f_0 , le proteine al punto isoelettrico in genere non sono sferiche, ma sono ellissoidi più o meno allungati, oppure sono più o meno solvatate. Per altre, non riportate in tabella, si hanno dati analoghi; per moltissime inoltre sono conosciute solo le costanti di sedimentazione s , e quindi si ha solo una provvisoria indicazione del peso molecolare.

Oltre le proteine, sono state investigate con l'ultracentrifuga molte altre sostanze, fra i prodotti organici e quelli sintetici. In questi casi, trattandosi in generale di miscele di omologhi a pesi molecolari diversi, l'ultracentrifuga ne mostra la polidispersità; se si osservano frazioni ben definite, si può ricavarne il peso molecolare medio, e si possono avere preziose informazioni sullo stato di purezza, di omogeneità, di solvatazione, di aggregazione delle molecole nelle frazioni. La trattazione matematica del comportamento di oggetti non sferoidali, quali in genere sono le molecole di questi prodotti, presenta notevoli complicazioni e difficoltà, che si vedranno meglio più innanzi, trattando della viscosità: i dati dell'ultracentrifuga sono quasi sempre da confrontare, in questi casi, con quelli delle misure di viscosità, sia per controllo di queste, sia per ricavare dal confronto, in caso di divergenze, utili informazioni relativamente allo stato delle molecole in soluzione.

Vennero così studiati con l'ultracentrifuga:

acido idrossidecilico polimerizzato,	in tetrabromoetano
acetilcellulosa	in acetone
cellulosa	in cuprammonio
nitrocellulosa	in acetone
etilcellulosa	in diossano
metilcellulosa	in acqua
caucciù	in etere, benzolo, cloroformio
poli-cloroprene	in cloruro di metile, benzolo, cloroformio
polistiroli	in diversi solventi.

I risultati, che verranno considerati insieme a quelli del metodo della viscosità, mostrano ad ogni modo che queste sostanze si disciolgono molecolarmente e non micellarmente, e che effettivamente esiste la linearità fra viscosità e peso molecolare voluta dalla legge di STAUDINGER, di cui si discuterà fra poco. Per le metilcellulose SIGNER

ha trovato valori di f/f_0 , assai alti (4,5 ÷ 3,0): per i polistiroli valori intorno a 2.

Infine per l'amido di patate LAMM ha trovato pesi molecolari medi intorno a $3 \cdot 10^6$, con $f/f_0 = \infty 3$.

Il glicogeno ha particelle fra 1,5 e $4,5 \cdot 10^7$.

L'acido timonucleinico ha un peso medio 200.000, con $f/f_0 = 2,5$.

Metodo della viscosità

Già GRAHAM aveva suggerito che la viscosità di composti di costituzione simile avrebbe dovuto crescere in modo regolare con il numero di molecole o di gruppi contenuti in essi. Ed effettivamente specialmente le misure di THORPE e RODGER hanno mostrato che in qualunque serie omologa di composti (p. es. idrocarburi paraffinici normali) la viscosità cresce regolarmente con il peso molecolare, se si prescinde dai primi membri della serie che si comportano in modo anomalo. In qualche serie (alcool, acidi, grassi) si hanno inoltre irregolarità dipendenti da associazioni.

Quindi, in serie omologhe, è possibile ricavare una indicazione del peso molecolare dalla misura della viscosità. Ma il metodo non è applicabile così alle sostanze di alto peso molecolare, perchè queste non sono liquide o non sono fusibili senza decomposizione, e quindi non è possibile misurare la viscosità della sostanza pura.

Bisogna ricorrere alla misura di viscosità delle soluzioni. E' noto che, tranne che per alcuni sali di potassio, ammonio, rubidio e cesio, le cui soluzioni acquose o alcooliche entro certi limiti di concentrazione e di temperatura hanno viscosità inferiore a quella del solvente puro, le soluzioni hanno viscosità superiori a quelle del solvente puro, e gli incrementi per eguali aggiunte di sostanza disciolta sono maggiori per le concentrazioni più elevate.

Naturalmente, se esiste una relazione che legghi tale incremento alle caratteristiche della sostanza disciolta, questa sarà tanto più semplice quanto meno sarà concentrata la soluzione, perchè in tali condizioni divengono trascurabili gli effetti dipendenti dalle azioni reciproche fra le molecole del soluto, e rimangono solo quelli dipendenti dall'azione del soluto sul solvente. Perciò tale relazione potrà essere ricavata dalla inclinazione della tangente iniziale alla curva concentrazione-viscosità. Se si chiama η_0 la viscosità del solvente puro,

η quella della soluzione, si avrà per tale tangente la relazione:

$$(62) \quad \eta = \eta_0 + k'c \quad (c \rightarrow 0).$$

Ora si osserva che, in generale, l'inclinazione di tale retta (ossia il valore di k') è tanto maggiore quanto maggiore è la viscosità del solvente puro; ossia che, come è logico, l'incremento di dissipazione di energia durante il moto per causa di una certa sostanza disciolta è dipendente dalla viscosità del solvente: si può scrivere, sempre intendendo la relazione valevole per c tendente a 0:

$$(63) \quad \eta = \eta_0 + k \eta_0 c \quad (c \rightarrow 0),$$

o anche

$$(64) \quad \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = kc \quad (c \rightarrow 0).$$

Si chiama *viscosità relativa* il rapporto $\frac{\eta}{\eta_0} = \eta_r$, *accrescimento specifico della viscosità dovuto al soluto* (JAEGER), malamente detto generalmente *viscosità specifica*, il rapporto $\frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \eta_{sp} = \eta_r - 1$.

KRAEMER ⁽⁶⁹⁾ definisce *viscosità intrinseca* il limite:

$$(65) \quad [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_r}{c}.$$

Risulta allora

$$(66) \quad [\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{1}{\eta_r} \frac{d\eta_r}{dc};$$

e poichè

$$\lim_{c \rightarrow 0} \frac{1}{\eta_r} = 1, \quad \lim_{c \rightarrow 0} \frac{d\eta_r}{dc} = k,$$

la *viscosità intrinseca* è appunto la k , ossia l'inclinazione della tangente, per $c = 0$, della curva rappresentativa della viscosità specifica in funzione della concentrazione.

Il problema della viscosità in relazione al peso molecolare è allora

limitato allo studio di

$$(67) \quad k = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\ln \eta_r}{c},$$

che può avere valori diversi a seconda del modo come è misurata la concentrazione c .

Qualora non si voglia fare nessuna supposizione sullo stato della sostanza in soluzione, ma si voglia rimanere ai puri dati sperimentali, c viene espressa in peso per unità di volume di soluzione (p. es. grammi per litro di soluzione). D'altra parte è logico pensare che l'effetto del soluto dipenda più dal volume occupato da questo che dal peso di esso. Perciò assai spesso al posto di c si introduce il rapporto v/V fra i volumi di soluto v e di soluzione V : è necessaria qui la conoscenza del *volume specifico* del soluto nella soluzione. Si scrive:

$$(68) \quad k = \lim_{\frac{v}{V} \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{\frac{v}{V}}.$$

Se è W_s il volume specifico del soluto nella soluzione (cm^3/g), la relazione fra k_v e k (con c in grammi per litro) risulta

$$(69) \quad k = k_v \frac{W_s}{1000}.$$

In questa relazione W_s deve intendersi come $W_s = \lim_{\frac{v}{V} \rightarrow 0} W_s$, os-

sia il limite alle concentrazioni piccolissime, e molto spesso viene arbitrariamente assunto eguale al volume specifico del soluto puro.

Se la sostanza disciolta è un polimero, che sia costituito dalla ripetizione nella molecola di un gruppo fondamentale (CH_2O nei poli-ossimetileni, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ nei poliossietileni, $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{C}_2\text{H}_3$ nei polistiroli, $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$ nella cellulosa, nell'amido, C_5H_8 nel caucciù, ecc.), avente un peso molecolare G , il rapporto c/G rappresenta una *concentrazione molecolare di gruppo*, che si può indicare con c_G (*Grundmolarität* di STAUDINGER). Definendo

$$(70) \quad k_m = \lim_{c_G \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c_G},$$

risulta allora

$$(71) \quad k_m = kG = k_v \frac{W_s G}{1000} .$$

E' noto che nelle miscele binarie di due componenti A e B si è tentato di descrivere la viscosità con una relazione del tipo generale

$$(72) \quad \varphi(\eta) = x \cdot \varphi(\eta_A) + (1 - x) \cdot \varphi(\eta_B)$$

dove η_A, η_B, η , sono le viscosità di A, di B e della soluzione, $\varphi(\eta)$ una speciale funzione di η e $x, 1 - x$ i rapporti molecolari di A e di B nella soluzione. Per la φ sono state proposte funzioni diverse: $\eta, \log \eta$ (ARRHENIUS, LEDERER), $\frac{1}{\eta}$ (BINGHAM), $\eta^{\frac{1}{3}}$ (KENDALL e MONROE).

Se ci limitiamo a studiare le miscele estremamente diluite, e B è il solvente ($\eta_B = \eta_0$), si ottiene

$$(73) \quad \frac{d\eta_{sp}}{d\left(\frac{v}{V}\right)} = \frac{\varphi(\eta_A) - \varphi(\eta_0)}{\eta_0 \varphi'(\eta)} \cdot \frac{dx}{d\left(\frac{v}{V}\right)} .$$

Sia ora M_0 il peso molecolare del solvente e W_0 il suo volume specifico, M_s il peso molecolare del soluto e W_s il suo volume specifico: si ricava:

$$(74) \quad k_v = \lim_{\frac{v}{V} \rightarrow 0} \frac{d\eta_{sp}}{d\left(\frac{v}{V}\right)} = \frac{\varphi(\eta_A) - \varphi(\eta_0)}{\eta_0} \cdot \lim_{\frac{v}{V} \rightarrow 0} \frac{1}{\varphi'(\eta)} \cdot \frac{dx}{d\left(\frac{v}{V}\right)}$$

$$k_v = \frac{\varphi(\eta_s) - \varphi(\eta_0)}{\eta_0} \cdot \frac{M_0 W_0}{M_s W_s} \cdot \lim_{\frac{v}{V} \rightarrow 0} \frac{1}{\varphi'(\eta)} = \frac{\varphi(\eta_s) - \varphi(\eta_0)}{\eta_0 \varphi'(\eta_0)} \cdot \frac{M_0 W_0}{M_s W_s} .$$

Appare di qui che se esiste una relazione adatta fra viscosità η_s e peso molecolare del soluto, il valore di k_v può servire a determinare il peso molecolare. Naturalmente, per sostanze solide, il valore η_s non potrà essere che un valore virtuale, caratteristico per lo stato di soluzione nel quale la sostanza si trova. Nè d'altra parte la relazione (72) pretende di rappresentare la viscosità di tutte le soluzioni di varia concentrazione: è probabile che essa abbia validità limitata a concentrazioni assai basse, quale è il caso per la determinazione di k_v .

Fra le varie forme della funzione φ proposte si può scegliere la

più semplice $\varphi(\eta) = \eta$: risulta in tal caso

$$(75) \quad k_v = \frac{\eta_s - \eta_0}{\eta_0} \cdot \frac{M_0 W_0}{M_s W_s}.$$

Se si ammette, come del resto è il caso, che η_0 sia molto piccola rispetto a η_s , l'espressione si riduce a

$$(76) \quad k_v = \frac{\eta_s}{\eta_0} \cdot \frac{M_0 W_0}{M_s W_s}$$

o anche

$$(77) \quad k = \frac{\eta_s}{\eta_0} \frac{M_0 W_0}{1000 M_s} \quad \text{e} \quad k_m = \frac{\eta_s}{\eta_0} \frac{M_0 W_0 G}{1000 M_s}$$

Come è ben noto, EINSTEIN (70), nello studio dell'effetto della presenza di sferette rigide di dimensioni relativamente grandi sulla viscosità del solvente, è giunto all'espressione

$$(78) \quad \eta_{sp} = 2,5 \frac{v}{V}$$

e quindi

$$(79) \quad k_v = 2,5$$

indipendentemente dalla grandezza delle particelle.

In questo caso evidentemente la viscosità virtuale η_s nello stesso solvente, per serie omologhe di molecole, ossia per sferette di dimensioni differenti, deve essere proporzionale al peso molecolare. Ma poiché il valore accessibile all'esperienza è k_v , non si ha, per molecole assimilabili alle sferette di EINSTEIN, la possibilità di misura del peso molecolare dalla viscosità.

Per serie omologhe di molecole filiformi (paraffine, acidi grassi, esteri di acidi grassi, alcool normali, polioossimetilene, polioossietilene, cellulose, esteri della cellulosa, ecc.) STAUDINGER e collaboratori (71) hanno trovato che k_v , o meglio k_m , è proporzionale al peso molecolare M_s :

$$(80) \quad k_m = k'_m M_s.$$

Ne risulta immediatamente che, valendo il ragionamento schematico che ha condotto alla (77), la viscosità virtuale η_s deve essere, in una serie omologa, proporzionale al quadrato del peso molecolare:

$$(81) \quad \eta_s = k'_m \frac{1000 \eta_0}{M_0 W_0 G} \cdot M_s^2.$$

A questo proposito si ricordi che GARTENMEISTER (⁷²) trova che il rapporto η/M^2 rimane costante in serie omologhe ad una stessa temperatura per composti organici puri (non soluzioni) aventi catene con diverso numero di $=CH_2$, ossia precisamente per composti a molecola filiforme.

La legge di Staudinger, ricavata da un ricchissimo materiale sperimentale sui termini inferiori di serie omologhe, aventi pesi molecolari determinati agevolmente per altra via, è utilizzata per la determinazione dei pesi molecolari dei termini superiori, estrapolandola ad essi. Si è veduto che la legge vale realmente anche per tali grossi polimeri, perchè il rapporto fra k_{∞} e il peso molecolare determinato per mezzo dell'ultracentrifuga rimane costante al variare del peso molecolare per serie omologhe (così per gli acetati di cellulosa in acetone (KRAEMER e LANSING, KRAEMER), per le cellulose in soluzione cupriammoniacale (KRAEMER e LANSING), per le nitrocellulose in acetone, ecc.). Però in qualche caso il valore della costante è risultato diverso da quello ricavato per estrapolazione. Questo non toglie che ormai si possa ritenere perfettamente fondata la legge di STAUDINGER, indipendentemente dalla spiegazione che ad essa si voglia dare.

E' noto che la legge ha dato origine a vivaci polemiche, non di per sè, ma per l'interpretazione che si è voluto darle, e per le conclusioni relative alla lunghezza e alle dimensioni trasversali delle molecole. Immaginando che le molecole filiformi siano, nella soluzione, perfettamente diritte e rigide, come bastoncini, e che abbiano influenza sulla viscosità soltanto la lunghezza e non le dimensioni trasversali della molecola, la legge si trasforma in una proporzionalità fra k_{∞} e la lunghezza delle molecole, da cui si possono calcolare la lunghezza stessa e successivamente le dimensioni trasversali: così la piccolezza di k'_{∞} per l'amido in confronto al k'_{∞} per la cellulosa mostrerebbe la minor lunghezza della molecola di amido a parità di peso molecolare.

Purtroppo è assai poco probabile che strutture estremamente lunghe e sottili come quelle delle molecole filiformi possano rimanere diritte quando sono disciolte in un solvente; per quanto si possa pensare ad una tendenza a rimanere diritte, è assai più probabile che le molecole stesse siano più o meno raggomitolate, e in continuo cambiamento di configurazione, per cui non è possibile che assegnare valori medi nel tempo per le dimensioni della porzione di spazio occupata da ciascuna.

D'altra parte è possibile ricavare, per via idrodinamica, quale sia l'effetto, sulla viscosità del solvente, di oggetti disciolti di forma ellissoidica molto allungata o di bastoncini dritti, supposti rigidi (⁷³);

a seconda delle ipotesi adottate per semplificare il problema, per le quali rimando alle note originali, sono state ottenute formule diverse, che possono scriversi come segue:

$$(82) \quad k_v = 2,5 + \frac{f^2}{16} \quad \text{KUHN, GUTH } (74)$$

$$(83) \quad k_v = \frac{1,15}{\pi} \frac{f}{\ln 2f} \quad \text{EISENSCHITZ } (75), \text{ per } f \text{ molto grande}$$

$$(84) \quad k_v = \frac{4}{5} \frac{(f^2 - 1)^2}{f^2} \left\{ \frac{-\frac{41}{4} + \frac{f^2}{2} + \left(3f^2 \times \frac{15}{8}\right)\varphi}{3\left(2f^2 - 5 + \frac{3}{2}\varphi\right)\left(-\frac{3}{2} + \left(\frac{1}{2}f^2 + \frac{1}{4}\right)\varphi\right)} + \right. \\ \left. + \frac{1}{2} \frac{f^2}{f^2 + 1} \cdot \frac{1}{1 + \frac{f^2}{2} - \frac{3}{4}f^2\varphi} \right\} \quad \text{EISENSCHITZ, JEFFERY, BURGERS } (76)$$

essendo

$$(85) \quad \varphi = \frac{2}{f\sqrt{f^2 - 1}} \ln \left(f + \sqrt{f^2 - 1} \right) ,$$

la quale, per f molto grande rispetto a 1, si può ridurre a

$$(86) \quad k_v = \frac{f^2}{15(\ln 2f - 1,5)} + 0,8 .$$

In queste espressioni f rappresenta il rapporto a/b fra il semi-asse maggiore e il semi-asse minore degli ellissoidi di rotazione assimilabili alle molecole in questione (lunghezza = $2a$, diametro = $2b$), e \ln è il logaritmo naturale.

La relazione di KUHN, che è di assai comodo impiego, è quella che fornisce i valori più alti; la prima di EISENSCHITZ dà valori assai piccoli, ma è stata dedotta solo per particelle non soggette a moti browniani; per la formula completa (84) BURGERS dà una tabella di valori.

Le formule idrodinamiche approssimativamente richiedono una relazione quadratica fra f e k_v .

Se si ammettessero molecole diritte, aventi lunghezza proporzionale al peso molecolare e diametro sempre uguale, si dovrebbe

avere all'incirca proporzionalità fra k_e e il quadrato del peso molecolare; ossia le formule idrodinamiche sarebbero in netta contraddizione con la formula di STAUDINGER.

Ma si ricordi che le formule suddette sono dedotte nell'ipotesi di ellissoidi *rigidi* immersi in un liquido viscoso che *aderisce completamente alla loro superficie*. La prima ipotesi è poco probabile per le molecole assai lunghe, come è stato detto prima: se essa fosse vera, ossia la molecola fosse come un bastoncino rigido, la seconda non sarebbe in generale soddisfatta per molecole filiformi, perchè le dimensioni trasversali di queste sono comparabili con le dimensioni delle molecole del solvente. E' assai più probabile il caso che le molecole siano più o meno aggomitolate: in tal caso, a parte l'ipotesi di rigidità, il rapporto f non ha più niente a che fare con il peso molecolare, in quanto può soltanto definire la configurazione media della molecola-gomitolo durante il moto; e inoltre non si ha nessuna indicazione relativamente al volume specifico che la molecola aggomitolata ha nella soluzione, dato che il gomitolo racchiude inevitabilmente un certo volume di solvente. Sono perciò senza significato i tentativi di calcolare le dimensioni molecolari dalla viscosità attraverso le formule idrodinamiche; d'altra parte la formula di STAUDINGER serve benissimo per definire i pesi molecolari, noto che sia il k'_m della serie omologa di composti, ma non può essere usata per dedurre la lunghezza della catena del composto, se non si fa insieme qualche ipotesi sui legami dei singoli gruppi nella catena stessa.

Si può calcolare l'aggomitolamento probabile nell'ipotesi di rotazione più o meno libera della catena intorno ai legami semplici: risulta una lunghezza efficace che cresce secondo una potenza (fra $2/3$ e $1/2$) del peso molecolare, e questo darebbe un accordo qualitativo con i dati sperimentali di viscosità (¹⁷), quando si ammette che il volume virtualmente occupato dalla molecola, dal quale dipende la viscosità η_{sp} , cresca col cubo della lunghezza efficace. Naturalmente anche in questa considerazione non si possono invocare più le deduzioni idrodinamiche.

Ammesso che la legge di STAUDINGER valga come legge sperimentale essa è estremamente comoda per la determinazione dei pesi molecolari quando si siano previamente determinate le costanti k'_m della serie di composti: si hanno così i valori seguenti:

paraffine in tetracloruro	$k'_{sp} = 1,14 \cdot 10^{-4}$
poliossimetilene in cloroformio	$2,4 \cdot 10^{-4}$
poliossietilene in benzolo	$1,8 \cdot 10^{-4}$
triacetilcellulosa in m. cresolo	$6,3 \cdot 10^{-4}$
» in cloroformio	$5,3 \cdot 10^{-4}$
amido in formammide	$0,63 \cdot 10^{-4}; 1,6 \cdot 10^{-4}; 1,3 \cdot 10^{-3}$ (7 ^b).
polivinilacetato	$2,6 \cdot 10^{-4}$
poliindene	$1,8 \cdot 10^{-4}$
polistiroli	$1,8 \cdot 10^{-4}$
cellulosa in cuprammonio	$5 \cdot 10^{-4}$
triacetilamido in cloroformio	$1,02 \cdot 10^{-4}$
» in m. cresolo	$0,93 \cdot 10^{-4}$
nitrocellulosa in acetone	$10 - 11 \cdot 10^{-4}$
nitroamido in acetone	$0,68 \cdot 10^{-4}$.

E' stato tentato di ricavare informazioni circa il peso molecolare dalla forma della curva η_{sp} -concentrazione per concentrazioni alquanto elevate (7^a): è necessario introdurre due costanti caratteristiche anzichè una sola, ma la complicazione dei fenomeni che intervengono nelle soluzioni mediamente concentrate rende difficile l'interpretazione dei dati sperimentali. Tanto più che, come già si è accennato, per queste soluzioni assai frequentemente si hanno fortissime deviazioni dalla legge di POISEUILLE e la viscosità è funzione complicata del gradiente trasversale di velocità e anche della durata di movimento, sia per orientamento delle molecole, sia per variazione delle loro condizioni di aggomitolamento e di volume occupato mediamente dalla molecola gomito.

Prima di dare qualche cenno ai risultati ottenibili sui solidi con l'impiego dei raggi X, conviene riassumere e considerare quanto è stato detto finora relativamente ai metodi di determinazione dei pesi molecolari.

Amnesso che una certa sostanza si disciolga molecolarmente, cosa che è verificabile con i criteri che sono stati indicati, il metodo osmotico, pur con tutte le difficoltà inerenti alla sua applicazione allo studio delle molecole assai grandi, e il metodo dell'equilibrio di sedimentazione, ci forniscono il peso molecolare senza necessità di ipotesi

di forma o della conoscenza di speciali costanti. Corrispondentemente questi metodi non ci dicono nulla sulla *forma* delle molecole stesse in soluzione.

Il metodo osmotico inoltre prescinde anche dalla conoscenza del volume specifico del soluto nella soluzione, che è invece indispensabile per il metodo dell'equilibrio di sedimentazione, e per il quale poco si può sapere specialmente per molecole molto solvate o aggomitolate a gomitolo più o meno « vuoto ».

Legati invece alla *forma* (e sempre al volume specifico) sono il metodo della diffusione e quello della velocità di sedimentazione: essi possono dare la grandezza molecolare solo per molecole sferiche, se non si fanno altre ipotesi che quelle di validità della formula di EINSTEIN. Naturalmente la combinazione dei risultati dei due metodi elimina il fattore *forma* e può dare il peso molecolare senza ipotesi circa quest'ultima (la costante D ottenuta per diffusione si introduce nella formula della sedimentazione). Il fattore forma o solvatazione può poi essere dedotto dal confronto con l'ipotesi di sfericità e di non solvatazione.

Fra tutti i metodi, quello viscosimetrico assume una posizione speciale: da esso, su un prodotto *nuovo*, non si può ricavare nulla; tutt'al più, se si ha fiducia nelle formule idrodinamiche, una indicazione sulla *forma* delle particelle in soluzione, ma nessun dato circa il peso molecolare (in conformità del resto al risultato di EINSTEIN circa l'indipendenza di k_e dalla *grandezza* delle particelle). Solo se, con l'impiego degli altri metodi (in particolare quello osmotico o quelli di sedimentazione) o con l'estrapolazione in serie omologhe, si è potuto comprovare la validità della legge di STAUDINGER e determinare il valore della k'_m , il metodo diviene prezioso, per la sua comodità, nello studio dei pesi molecolari dei prodotti della stessa serie omologa. Naturalmente la forma può essere dedotta poi, con le ipotesi diverse che si possono fare circa il significato della legge di STAUDINGER.

Noto il peso molecolare, i metodi chimici, specialmente quelli dei gruppi terminali, sono necessari per la determinazione della forma: così quando HIRST e YOUNG trovano viscosimetricamente per l'amido pesi molecolari altissimi (da 20.000 fino a 700.000) mentre costantemente si ha un gruppo terminale ogni 6000 ÷ 7000 unità di peso molecolare, è immediata la deduzione di una struttura ramificata dell'amido, ogni ramo avendo 24 ÷ 30 unità di glucosio ⁽⁸⁰⁾.

Rimane da fare qualche breve accenno ai metodi röntgenografici.

Il valore del metodo röntgenografico per la determinazione dei pesi molecolari, o meglio delle dimensioni molecolari, è assai limitato.

Per mezzo di esso non si può distinguere fra quella che è una ripetizione regolare di gruppi *entro una stessa molecola* e quella che è una successione regolare di molecole. Si può solo parlare di periodo di identità in una certa direzione, senza distinguere se il periodo è *dentro una molecola* o è *fra molecole diverse*.

Così ormai è riconosciuto che il periodo di identità $10,3 \div 10,4 \text{ \AA}$ lungo l'asse della molecola di cellulosa è la distanza corrispondente a 2 gruppi di glucosio, che costituiscono così l'unità di ripetizione della catena di cellulosa; non è perciò possibile per mezzo dei raggi X determinare l'effettiva lunghezza delle catene di cellulosa allo stato solido.

La possibilità che i polimeri potessero avere catene assai più lunghe delle celle elementari, venne dapprima discussa da POLANYI e HERZOG (1921), poi da KATZ e WEISSENBERG (1924-1925). La prova di questo si ebbe nel 1927, con lo studio röntgenografico dei poliossimetileni (⁸¹) per i quali l'analisi dei gruppi terminali dopo acetilazione o metilazione dà il peso molecolare, e accurato frazionamento permette la separazione di individui ben definiti, per lo meno per i pesi molecolari fino a circa 20 gruppi CH_2O . L'analisi röntgenografica fornisce un gruppo di linee, eguale per tutti i diversi polimeri, e un gruppo centrale le cui distanze sono dipendenti dal peso molecolare: il primo gruppo definisce l'unità di polimerizzazione — CH_2O —, le altre interferenze definiscono la lunghezza totale della catena, che risulta proporzionale al numero di gruppi costituenti. Per i polimeri con più di 20 gruppi — CH_2O — non è possibile un frazionamento sufficiente: la presenza di individui di diversa lunghezza non permette corrispondentemente il comparire delle interferenze centrali. Questo avviene per tutti i polimeri lineari molto grandi, costituiti da associazioni di molecole di diversa lunghezza.

La determinazione di uno o più periodi di identità non è che il primo passo verso la determinazione della struttura cristallina effettiva: nei polimeri lineari che siano miscele di diversi pesi molecolari il massimo di ordinamento che ci si può aspettare è quello di fibre a molecole parallelizzate e ordinate regolarmente nella sezione trasversale alla fibra o di pellicole con molecole completamente orientate.

L'analisi röntgenografica permette in tal caso di definire una struttura *probabile*, con determinate distanze fra catena e catena e con determinati angoli di reticolo (⁸²). E si trova in generale che le distanze fra catena e catena, qualora non si abbiano catene laterali, corrispondono alla distanza fra strutture unite da valenze secondarie: questo conferma allora che le molecole anche nel solido sono filiformi.

L'esame di alcune proteine cristallizzate (pepsina, insulina) ha

mostrato celle probabili assai grandi; interpretabili come contenenti un certo numero (pepsina 12, insulina 26) di molecole aventi il peso molecolare definito con gli altri metodi, ciascuna come uno sferoide appiattito denso, con larghi spazi fra l'una e l'altra (⁸³).

L'esame di fibre proteiniche ne definisce il periodo di identità come la distanza fra due legami proteinici ($3,5 \div 3,38 \text{ \AA}$), quindi conferma la struttura filiforme, con numerose interessanti variazioni dipendenti dalla condizione di tensione e di stiramento della fibra stessa (cheratina).

Da quanto si è detto i risultati del metodo röntgenografico si riferiscono piuttosto all'ordinamento delle molecole che alla struttura ed alla dimensione di queste, individualmente considerate. Perciò il metodo esula un po' dal nostro argomento; appunto per questo non mi diffondo sui cospicui interessanti risultati ottenuti sulle cellulose, sul caucciù, sull'amido, sulle proteine, ecc., tanto più che si entrerebbe allora nel campo della struttura submicroscopica del protoplasma, del nucleo e dei prodotti naturali derivati da esso, circa la quale il metodo röntgenografico, unito a metodi ottici e a metodi chimici, ha potuto illuminare numerosi punti (⁸⁴).

Queste ricerche e questi risultati collegano la fredda determinazione chimico-fisica dei pesi molecolari e delle forme molecolari al mistero della vita nelle cellule, ci fanno intravedere le catene o i gomitoli o gli ellissoidi, di cui studiamo le caratteristiche con i metodi che abbiamo descritto quando purtroppo sono ormai avulsi dalla vita, proprio nel loro generarsi e distruggersi, nel loro delicato equilibrio legato a condizioni ambientali in realtà sconosciute, nelle loro reciproche relazioni cui ciascuno contribuisce in modo perfettamente definito, nella loro « vita » di molecole cui la « vita » dell'individuo è legata, e ci fanno pensare che persino alla trasmissione dei caratteri di generazione in generazione provvedono, nel mistero della riproduzione, quelle grosse molecole che noi schematizziamo finora con un peso e con un fattore di forma, ma che sappiamo essere, nonostante l'analogia di costruzione, perfettamente specifiche, assolutamente « individi » nelle loro proprietà.

N O T E

La bibliografia qui riportata è ben lungi dall'essere completa: in molti dei lavori citati si troveranno numerose altre indicazioni.

(¹) FISCHER, *Berichte*, **39**, 530 (1906); HOFMEISTER, *Naturwiss. Rundschau*, **17**, n. 42-43 (1902).

(²) BERGMANN, *Chem. Reviews*, **22**, 423 (1938).

(³) COHN, *Chem. Reviews*, **24**, 203 (1939).

(⁴) BERGMANN e MACHEMER, *Berichte*, **63**, 316, 2304 (1930).

(⁵) SCHMIDT, *Cellulosechemie*, **13**, 129 (1932).

(⁶) HAWORTH e MACHEMER, *J. chem. Soc. London*, 2372 (1932); HAWORTH, *Berichte*, **65**, A 43 (1932).

(⁷) HAWORTH e HIRST, *Trans. Far. Soc.*, **29**, 14 (1933); HIRST, PLANT, WILKINSON, *J. chem. Soc. London*, 2375 (1932); HAWORTH e PERCIVAL, *J. chem. Soc. London*, 2277 (1932); HAWORTH, HIRST, JSHERWOOD, *J. chem. Soc. London*, 577 (1937); HAWORTH, HIRST, SMITH, *J. chem. Soc. London*, 1914 (1939).

(⁸) HESS, *Zeitsch. f. ang. Chemie*, **49**, 841 (1936); HESS e NEUMANN, *Berichte*, **70**, 710, 721, 728 (1937); LECZYCK, *Berichte*, **71**, 829 (1938).

(⁹) HAWORTH, HIRST, OWEN, PEAT, AVERILL, *J. chem. Soc. London*, 1885 (1939); HAWORTH, MONTONNA, PEAT, *J. chem. Soc. London*, 1899 (1939).

(¹⁰) HESS e LUNG, *Berichte*, **71**, 815 (1938).

(¹¹) HIRST e YOUNG, *J. chem. Soc. London*, 951, 1471 (1939).

(¹²) ERIKSSON - QUENSEL, SVEDBERG, *J. am. chem. Soc.*, **58**, 1863 (1936); WYCKOFF, *J. biol. Chem.*, **122**, 239 (1937); LAUFFER e STANLEY, *Chem. Reviews*, **24**, 303 (1939).

(¹³) Oltre i numerosissimi lavori di STAUDINGER e collaboratori, vedi anche KRAEMER, *Ind. Eng. Chem.*, **30**, 1200 (1938).

(¹⁴) KRISHNAMURTI e SVEDBERG, *J. am. chem. Soc.*, **52**, 2897 (1930).

(¹⁵) LANSING e KRAEMER, *J. am. chem. Soc.*, **57**, 1369 (1935); **58**, 1469 (1936).

(¹⁶) Un tipico ordinamento di gruppi che può condurre a strutture poliedriche vuote, oltre che a strutture bidimensionali, è quello proposto da WRINCH e noto sotto il nome di *struttura del « ciclolo »*; vedi in proposito: WRINCH, *Nature*, **137**, 411 (1936), **138**, 651 (1936), **139**, 972 (1937); *Proc. Roy. Soc. London*, **160** A, 59 (1937), **161** A, 505 (1937); *Trans. Farad. Soc.*, **33**, 1368 (1937); *Phil. Mag.*, **24**, 940 (1937), **25**, 739 (1938); *Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, vol. VI, 122 (1938); WRINCH e LANGMUIR, *J. am. chem. Soc.*, **60**, 2247 (1938); LANGMUIR e SCHAEFER, *J. am. chem. Soc.*, **60**, 1351 (1938); LANGMUIR, *Proc. Phys. Soc.*, **51**, 592 (1939).

(¹⁷) STAUDINGER e HEUER, *Berichte*, **67**, 1164 (1934); *Trans. Farad. Soc.*, **32**, 323 (1936).

(¹⁸) STAUDINGER e HUSEMANN, *Liebig's Annalen*, **527**, 195 (1937); *Berichte*, **71**, 1057 (1938); HESS e LUNG, *Berichte*, **71**, 815 (1938); HIRST e YOUNG, *J. chem. Soc. London*, 951, 1471 (1939).

(¹⁹) LAMM, *Naturwiss.*, **24**, 508 (1936).

(²⁰) STAUDINGER e HUSEMANN, *Liebig's Annalen*, **530**, 1 (1937); HAWORTH, HIRST, SMITH, *J. chem. Soc. London*, 1914 (1939).

(²¹) Vedi l'ipotesi di WRINCH, di cui alla nota (¹⁶), e l'ipotesi di FREY-WYSSLING, *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate*, Berlino 1938, pag. 117 e seg. Ricordo che molte proteine in soluzione danno spontaneamente strati superficiali a spessore di pochi Å, evidentemente monomolecolari, estremamente insolubili, dimostrando così una struttura mono o bidimensionale: LANGMUIR e SCHAEFER, *J. am. chem. Soc.*, **60**, 1351 (1938); LANGMUIR, *Cold Spring Harbor Symposium on quantitative Biology*, vol. VI, 171 (1938); *Proc. Roy. Soc., A* **170**, 1 (1939); *Chem. Reviews*, **6**, 451 (1939).

(²²) MEYER e LOTMAR, *Helv. chim. Acta*, **19**, 68 (1936).

(²³) HOUWINK, *Trans. Farad. Soc.*, **32**, 123, 131 (1936); DE BOER, *Trans. Farad. Soc.*, **32**, 10 (1936); STAUDINGER e SORKIN, *Berichte*, **70**, 1565 (1937).

(²⁴) Vedi in proposito fra l'altro: SIGNER, *Zeitsch. f. phys. Chemie, A* **150**, 257 (1929); BOEHM e SIGNER, *Helv. chim. Acta*, **14**, 1370 (1931); KUHN, *Zeitsch. f. phys. Chemie, A* **161**, 1, 427 (1932); SIGNER, *Helv. chim. Acta*, **19**, 897 (1936); SIGNER e SARDON, *Helv. Chim. Acta*, **19**, 1324 (1936); BOEDER, *Zeitsch. f. Physik*, **75**, 268 (1932); NITSCHMANN, *Helv. chim. Acta*, **21**, 315 (1938); e per tutto il problema dell'orientamento BURGERS, cap. III in *Second Report on Viscosity and Plasticity*, Amsterdam 1938.

(²⁵) STAUDINGER e LOHMANN, *Berichte*, **68**, 2313 (1935).

(²⁶) Vedi in proposito per es. BECHHOLD, *Koll. Zeitsch.*, **66**, 329 (1934); **67**, 66 (1934); LYNEN, *Ang. Chem.*, **51**, 181 (1938).

(²⁷) I batteriofagi (D'HERELLE 1917) sono sostanze capaci di distruggere per lisi nelle loro culture i microorganismi corrispondenti: esse si trovano nei liquidi residui della distruzione stessa, e i liquidi agiscono dopo eliminazioni dei microorganismi per filtrazione nella candela porosa. Come i virus, possono accrescersi solo in presenza di cellule viventi.

(²⁸) CASPERSSON, *Skand. Archiv. Physiol. Suppl.*, **73**, (1936).

(²⁹) BARNARD, *Proc. Roy. Soc. Biol.*, **109**, 360 (1931); *J. Roy. microscop. Soc.*, **52**, 530 (1932).

(³⁰) Cfr. H. RUSKA, v. BORRIES, E. RUSKA, *Arkiv f. d. gesammte Virusforschung*, **1**, 155 (1939).

(³¹) FICK, *Ann. d. Physik*, **94**, 59 (1855).

(³²) STEFAN, *Wiener Berichte (II)*, **98**, 1418 (1889).

(³³) NORTHROP e ANSON, *J. gen. Physiol.*, **12**, 543 (1929).

(³⁴) BRINTZINGER e altri, *Zeitsch. f. anorg. allg. Chemie*, **168**, 145 (1927); **172**, 426 (1928); **184**, 98 (1929); **196**, 33 (1931); **232**, 415 (1937).

(³⁵) JANDER e SPANDAU, *Zeitsch. f. phys. Chemie, A* **185**, 325 (1939).

(³⁶) Vedi anche BEZZI, *Atti X Congresso internaz. chimica. Roma 1938*, vol. II, 116.

(³⁷) STAUDINGER e LOHMANN, *Berichte*, **68**, 2313 (1935).

(³⁸) OEHOLM, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, **70**, 378 (1910).

(³⁹) COHEN e BRUNS, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, **103**, 349 (1923); **113**, 157 (1924).

(⁴⁰) Calcolo e tabelle in STEFAN, *Wiener Berichte (II)*, **79**, 161 (1879).

(⁴¹) FÜRTH, *Phys. Zeitsch.*, **26**, 719 (1925).

(⁴²) TISELIUS e GROSS, *Koll. Zeitsch.*, **66**, 11 (1934).

(⁴³) Vedi FREUNDLICH, *Kapillarchemie*, II, 319, Lipsia 1932.

(⁴⁴) MEYER e MARK, *Berichte*, **61**, 1939 (1928); STAUDINGER, ASANO, BONDY, SIGNER, *Berichte*, **61**, 2575 (1928); BEZZI, *Mem. R. Istit. Veneto Scienze Lett. Arti* **30**, n. 7 (1939).

(⁴⁵) SIGNER, *Liebig's Annalen*, **478**, 246 (1930).

(46) ULMANN, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, A 156, 419 (1931); A 164, 318 (1933); *Berichte*, 67, 2131 (1934); 68, 134, 1217 (1935).

(47) DONNAN, HARRIS, *J. chem. Soc. London*, 99, 1555 (1911); HERZOG, SPURLIN, *Zeitsch. f. phys. Chemie, Bodenstein Festband*, (1931), 239; SCHULZ, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, A 176, 317 (1936).

(48) BERKELEY e HARTLEY, *Phil. Trans.*, A 206, 486 (1906); CARTER e RECORD, *J. chem. Soc., London*, 660 (1939).

(49) Vedi il metodo di OAKLEY, *Trans. Farad. Soc.*, 31, 136 (1935), per poter leggere pressioni piccolissime senza errori troppo grandi.

(50) SCHULZ, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, A 158, 237 (1932); A 160, 409 (1932); *Berichte*, 68, 2322 (1935).

(51) Per una diversa interpretazione dell'aumento di pressione osmotica rispetto alla legge di VAN'T HOFF, vedi anche KRATKY e MUSIL, *Zeitsch. f. Elektrochemie*, 43, 326 (1937).

(52) OBAGI e BRODA, *Koll. Zeitsch*, 69, 172 (1934).

(53) HERTZ, *Cellulosechemie*, 15, 95 (1934).

(54) BÜCHNER e STEUTEL, *Kgl. Acad. Wet. Amsterdam*, 36, 671 (1933).

(55) DOLBRY, *J. Chim. Phys.*, 31, 568 (1934); 32, 50 (1935).

(56) STAUDINGER e SCHULZ, *Berichte*, 68, 2320 (1935).

(57) CASPARI, *J. Chem. Soc. London*, 105, 2139 (1914).

(58) DOBRY, SCHWOB, *Bull. Soc. chim. France*, 3, 1790 (1936).

(59) SCHULZ, *Ang. Chemie*, 49, 863 (1936).

(60) CARTER e RECORD, *J. chem Soc. London*, 664 (1939).

(61) HENRIOT e HUGUENARD (1925); BEAMS, PICKELS, BAUER (1930-1937).

(62) Vedi SVEDBERG e PEDERSEN, *Die Ultrazentrifuge*, Dresda Lipsia, 1940, dove è raccolta anche la copiosissima letteratura collegata con l'argomento.

(63) Nelle formule precedenti, e anche in questa, il volume specifico W è quello misurabile per il componente in esame (proteine in acqua a 20°, 0,745 — 0,750; cellulosa in soluzione cuprammoniacale, 0,64; amido in acqua, 0,60; polistirolo in cloroformio, 0,91; polidioroprene in cloruro di *n*-butile, 0,77; metilcellulosa in acqua, 0,72). Se la particella, per qualunque ragione, trascina con sé una parte del solvente durante la sedimentazione, la particella solvatata dimostra un peso molecolare apparente, calcolato in base a W , maggiore di quello che le spetta quando non sia solvatata, e d'altra parte minore di quello che corrisponde all'insieme della particella e del solvente (vedi SVEDBERG e PEDERSEN (cit. (62), pag. 52 e seg.).

(64) HERZOG, ILLIG, KUDAR, *J. phys. Chemie*, A 167, 329 (1933); PERRIN, *J. d. Physique et Radium*, 7, 1 (1936).

(65) *Second Report on Viscosity and Plasticity*, Amsterdam 1938, cap. III (BURGERS).

(66) MC FARLANE, *Nature*, 142, 1023 (1938); *Proc. Roy. Soc. London*, A 170, 40 (1939); B 127, 1 (1939).

(67) Da una tabella di PEDERSEN in *Die Ultrazentrifuge*, cit. (62), pag. 368 e seg.

(68) Vedi per la letteratura in *Die Ultrazentrifuge* cit. (62), pag. 380 e seg.

(69) KRAEMER, *Ind. eng. chem.*, 30, 1200 (1938).

(70) EINSTEIN, *Ann. d. Physik*, 19, 289 (1906); 34, 591 (1911).

(71) Vedi STAUDINGER, *Die hochmolekularen organischen Verbindungen*, Berlino 1932, nonché la copiosissima letteratura successiva in argomento, specialmente i lavori di STAUDINGER e collaboratori su *Berichte* e *Liebig's Annalen*.

(72) GARTENMEISTER, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, 6, 524 (1890).

(73) BURGERS, cit. ().

(⁷⁴) KUHN, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, A 161, 1, 427 (1932); GUTH, *Koll. Zeitsch.*, 75, 20 (1936).

(⁷⁵) EISENSCHITZ, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, A 158, 78 (1931).

(⁷⁶) EISENSCHITZ, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, A 163, 133 (1933); JEFFERY, *Proc. Roy. Soc.*, 102, 161 (1922); BURGERS, cit. (⁶⁵). EISENSCHITZ ha ricalcolato gli integrali di JEFFERY, nei quali è sfuggito un errore: BURGERS adopera i valori di JEFFERY e dà una tabella per k_v . D'altra parte l'espressione finale data da EISENSCHITZ è errata, e qui ricalcolata: i valori corrispondenti sono poco diversi da quelli della tabella di BURGERS.

(⁷⁷) KUHN, *Koll. Zeitsch.*, 68, 2 (1934); *Ang. Chemie*, 49, 858 (1936).

(⁷⁸) HIRST e YOUNG, *J. chem. Soc. London*, 951, 1471 (1939) trovano più esatta una espressione $\tau_{sp} = k_m cM + a$, con $k_m = 1,3 \cdot 10^{-4}$ e a una costante.

(⁷⁹) Vedi p. es. BREDÉE, *Atti X Congresso internaz. di Chimica*, Roma 1938, vol. II, 165.

(⁸⁰) HIRST e YOUNG, *J. chem. Soc. London*, 1471 (1939).

(⁸¹) MIE, HENGSTENBERG, STAUDINGER, JOINER, SIGNER, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, 126, 425 (1927).

(⁸²) Vedi p. es. i numerosi studi sulla struttura della cellulosa e le polemiche relative (POLANYI 1921, SPONSLER e DORE 1936, MEYER e MARK 1928, ANDRESS 1929, HESS e TROGUS 1931, MEYER e MISCH 1937, SAUTER 1937, GROSS e CLARK 1938), fino al lavoro critico di KIESSIG, *Zeitsch. f. phys. Chemie*, 43, 79 (1939).

(⁸³) Vedi per l'insulina, anche in relazione alla teoria del « cicolo » (nota (⁶⁶)): WRINCH e LANGMUIR, *J. am. chem. Soc.*, 60, 2247 (1938); WRINCH, *Nature*, 143, 763 (1939); CROWFOOT, *Proc. Roy. Soc.*, A 164, 580 (1938).

(⁸⁴) Vedi in proposito, FREY-WYSSLING, *Submikroskopische Morphologie des Protoplasmas und seiner Derivate*, Berlino 1933, con copiosa bibliografia (466 lavori citati).
