

Rosario Nicoletti

✉ nicoletti.rosario96@gmail.com

# Le macchine della Chimica

## Riflessioni di un chimico in pensione

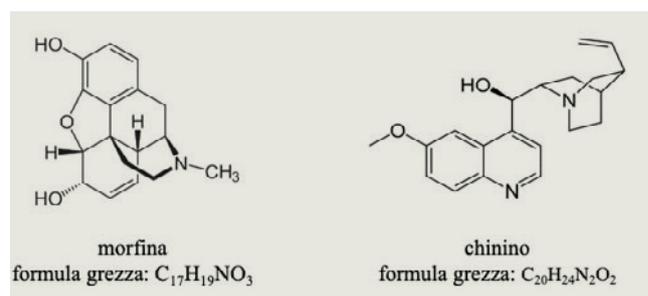
**C**hi studia oggi la chimica non immagina quanto lavoro ed anche controversie ci siano state in anni ormai lontani per trovare l'accordo sulla scrittura delle formule, cioè sul modo di rappresentare le varie sostanze, in particolare quando si tratta di sostanze organiche. Per queste ultime le formule "grezze" o "brute" ci dicono semplicemente quanti e quali sono gli atomi che compongono la molecola; quelle "di struttura" rappresentano, invece, come sono tra loro uniti i diversi atomi a formare la molecola. La grafia delle formule si è perfezionata nel tempo ed alcune di queste cercano in qualche modo di far capire, oltre alla sequenza, anche quale è la disposizione nello spazio degli atomi. Lavoisier, alla fine del '700, fu tra i primi a capire che la formula che noi oggi chiamiamo grezza, nel caso di sostanze contenenti solo carbonio e idrogeno, poteva essere ottenuta bruciando la sostanza e misurando l'acqua e l'anidride carbonica (diossido di carbonio) che si formano. Solamente dopo quaranta anni, avvalendosi anche delle scoperte di altri, Liebig costruì un apparecchio in grado di "intrappolare" e pesare correttamente l'anidride carbonica e l'acqua della combustione di una sostanza organica, in modo da determinare quali fossero i rapporti (in peso) tra carbonio e idrogeno, condizione necessaria per indicare il rapporto numerico tra gli atomi costituenti. Condizione che è però insufficiente a scrivere la formula; per questa bisogna conoscere anche il "peso" della molecola. Infatti, se scriviamo  $C_4H_{10}$  indichiamo un preciso rapporto in peso tra carbonio e idrogeno, ma lo stesso rapporto si ha con  $C_8H_{20}$  o con  $C_{12}H_{30}$ . La scelta tra i multipli è possibile determinando il peso molecolare; questa grandezza può essere ottenuta sfruttando alcune proprietà delle soluzioni. Poiché la tensione di vapore e la temperatura di congelamento di un liquido dipendono dal numero di particelle (ad esempio, molecole) disciolte e non dalle dimensioni delle particelle stesse, è possibile determinare i pesi molecolari; va aggiunto che i metodi richiedono molta attenzione ed abilità sperimentale.

Attribuire le formule di struttura alle varie sostanze è stato molto più difficile: infatti, le molecole organiche sono formate da molti atomi, decine, a volte centinaia, e capire come sono fatte le molecole delle sostanze che venivano isolate allo stato puro, quali le sequenze degli atomi e come sono tra loro uniti è stato oggetto di lavoro da parte di molti chimici per quasi due secoli. Cercheremo qui di raccontare gli straordinari progressi e vedremo come il chimico che studiava la struttura delle sostanze con i suoi alambicchi e provette faccia parte di un mondo scomparso.

### Un po' di storia

All'inizio del XIX secolo alcuni estratti o preparati da piante, a seguito di un paziente lavoro "chimico", avevano fornito sostanze pure, cioè in pratica delle "polverine" che, somministrate ai malati, avevano all'incirca gli stessi effetti degli estratti grezzi dei quali si faceva da tempo largo uso. Sarà sufficiente ricordare la morfina [1], ottenuta dall'oppio, e il chinino [2] ricavato da una pianta utilizzata anch'essa da secoli.

La chimica come scienza era molto indietro: non si sapeva che cosa fossero in realtà queste sostanze nuove, non essendo all'epoca chiara neanche la differenza tra atomi e molecole. Per avere le formule grezze di queste due sostanze fu necessario qualche decennio; la formula di struttura della morfina è stata scritta correttamente solo nel 1925 [3], mentre quella del chinino nel 1907 [4].



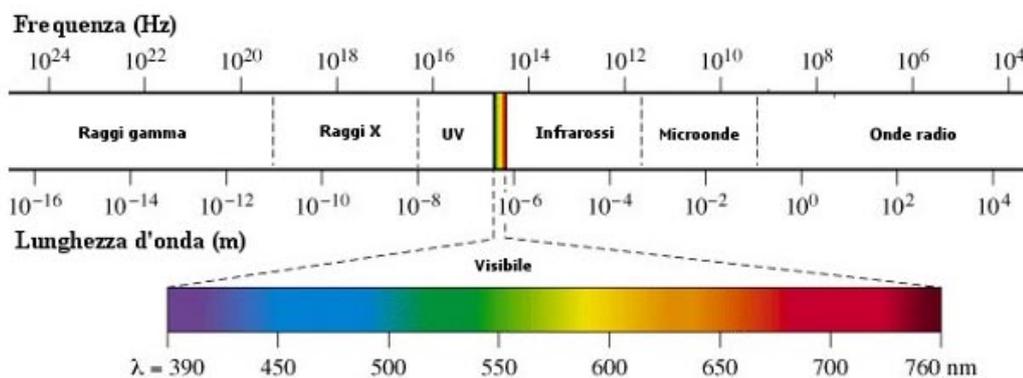


Fig. 1 Lo spettro delle radiazioni elettromagnetiche.

I chimici dell'epoca, fino ai primi anni del XX secolo, non avevano altro mezzo per capire come erano fatte le molecole, se non quello di "smontarle", farle cioè a pezzi con adatte reazioni e cercare di riconoscere la struttura dei frammenti. È facile comprendere come questo lavoro fosse molto difficile, specie agli inizi, visto che "riconoscere" i "pezzi" presuppone che un certo numero di essi fosse noto; cognizioni che si andavano faticosamente accumulando nel tempo. Un'ulteriore difficoltà era insita nel sistema di studio: facendo a pezzi una molecola si introducono delle modifiche che impediscono talvolta di capire come erano "uniti" i diversi pezzi. Tutto questo aveva come risultato che nel caso di architetture complesse come la morfina, fossero necessari molti decenni di esperimenti e tentativi per capire la struttura. La tecnica di demolire le molecole per studiarne la costituzione è stata utilizzata per buona parte del XX secolo, mentre iniziavano a venire in soccorso i metodi fisici di indagine strutturale, dei quali parleremo ora.

La rivoluzione introdotta dall'uso delle macchine ha fatto passi da gigante a partire dagli anni '40 del '900: oggi, se doveste dare una polverina come quella della morfina, con formula altrettanto complicata, ad un chimico specializzato nella determinazione strutturale dotato di adeguate macchine, vi darebbe il responso in alcuni giorni.

Nel XIX secolo e nei primi decenni del XX secolo vi era stato un uso sporadico di strumenti abbastanza semplici, che avevano però dato fondamentali contributi al chiarimento della struttura atomica ed alla scoperta di nuovi elementi. Molti di essi utilizzavano fasci di luce, che non sono altro che radiazioni elettromagnetiche (Figura 1).

Con il passare degli anni si capì che l'assorbimento di queste radiazioni [5], o in genere la loro interazione con la materia poteva dare straordinarie informazioni anche sulla struttura delle molecole: con onde di adatta frequenza si poteva dare uno sguardo in quel mondo submicroscopico che era stato fino ad allora solo immaginato.

I raggi X furono tra i primi ad essere utilizzati. Nelle sostanze solide, quando formano cristalli (li vediamo comunemente nel sale da cucina e nello zucchero), le molecole si trovano ordinate nello spazio; investite da raggi X, questi vengono deviati dagli atomi che compongono le molecole. Si ottengono le "figure di diffrazione" che attraverso complicati calcoli possono essere tradotte in una specie di fotografia tridimensionale della molecola. Questi calcoli sono molto complessi, oggi agevolati dai computer, e richiedono una particolare abilità: ai suoi esordi era una tecnica difficile da utilizzare e veniva applicata a molecole piuttosto semplici. Per la pubblicazione della complicata architettura elicoidale del DNA Watson e Crik [6] ricevettero il premio Nobel, avvalendosi anche dei risultati sperimentali ottenuti da una giovane ricercatrice, Rosalind Franklin [7]. A questa sfortunata donna purtroppo non venne riconosciuto alcun merito e, forse a causa dell'esposizione ai raggi X che usava comunemente per condurre le sue ricerche, morì a soli 37 anni.

Il primo aiuto che diventò popolare tra i chimici nello studio delle sostanze venne dall'impiego di radiazioni visibili ed ultraviolette, la "spettroscopia" UV/VIS, utilizzando lo "spettrofotometro". Una spettroscopia [8] può essere definita come lo studio dell'assorbimento od emissione di radiazioni (ad esempio, luminose) da parte della materia, correlando la dipendenza di tali processi alle lunghezze d'onda della radiazione. Lo spettrofotometro è lo strumento che ci fornisce un grafico nel quale compaiono dei "picchi" (di assorbimento) al variare delle lunghezze d'onda. Gli spettrofotometri UV/VIS ci permettono di capire alcuni particolari delle molecole: si riconoscono alcuni tipi di legame tra gli atomi. Sono informazioni a volte preziose, ma utili in un numero limitato di casi.

Poco dopo vennero posti in commercio degli spettrofotometri che misuravano l'assorbimento di radiazioni nella zona dell'infrarosso. Con questi nuovi strumenti si ottenevano informazioni di più vasta applicazione. L'assorbimento nell'infrarosso provo-



Fig. 2 Lo spettrometro NMR Varian A60, uno dei primi strumenti largamente utilizzati dai chimici per lo studio dei protoni.

ca vibrazione di tutti i legami chimici; le lunghezze d'onda dipendono dagli atomi coinvolti e dal tipo di legame. Sono informazioni preziose: vedendo un grafico (che riporta le lunghezze d'onda che vengono selettivamente assorbite), ottenibile in pochi minuti, un chimico capisce quali legami vi sono nella molecola.

Dopo la spettroscopia infrarossa, si affacciò un nuovo metodo di studio delle molecole basato sulla risonanza nucleare magnetica: metodo che, sviluppato e perfezionato nell'arco di decenni, è diventato il mezzo di indagine delle strutture più potente a disposizione dei chimici. La "risonanza nucleare magnetica" (NMR) è un fenomeno fisico che si osserva quando i nuclei di certi atomi (e quindi materiali formati da quegli atomi/molecole), trovandosi in un campo magnetico, se vengono perturbati da radiazioni elettromagnetiche di adatta frequenza, rispondono emettendo segnali di frequenza caratteristica, che dipende dall'intensità del campo. I segnali emessi dai singoli nuclei atomici si differenziano in funzione della intensità del campo magnetico: per osservare queste differenze sono necessari magneti di grande potenza. Il fenomeno, scoperto nel 1946 [9], è alla base dei più importanti e straordinari metodi di indagine in moltissimi rami della scienza, dalla medicina alla geologia; noi faremo cenno alle applicazioni nello studio delle molecole degli spettrometri NMR (Figura 2), macchine costruite sfruttando il fenomeno che abbiamo delineato.

Il carbonio e l'idrogeno, due elementi sempre presenti nei composti organici, hanno nuclei che presentano il fenomeno descritto; nel caso del carbonio, tuttavia, non si tratta del  $^{12}\text{C}$ , l'isotopo più abbondante, ma del  $^{13}\text{C}$  [10], che è sempre presente in una piccola percentuale (quasi) costante. All'inizio, con l'NMR era possibile studiare gli atomi di idro-

geno; solo in seguito, a causa della piccola quantità di  $^{13}\text{C}$  presente, fu possibile coinvolgere anche gli atomi di carbonio. Per potere studiare questi ultimi, dal momento che quelli attivi erano pochi e davano un segnale molto debole, fu necessario ricorrere ad un differente sistema di registrazione dei segnali, reso possibile dai progressi dei computer e dell'elettronica. Piuttosto che lavorare in "onda continua", cioè con irradiazione continua di una frequenza, si è visto che inviando brevissimi impulsi di un insieme di adatte frequenze, l'energia veniva restituita dai diversi tipi di nuclei atomici come onde di frequenza caratteristica che si smorzano rapidamente. Questi "treni d'onda" possono essere trattati con un processo matematico (trasformata di Fourier [11], che converte variabili nello spazio in variabili nel tempo) ottenendo uno spettro nel quale sono registrati i segnali dati dai nuclei atomici al variare delle frequenze.

Raggiunta la piena maturità, l'NMR si è rivelato avere una straordinaria potenza nell'indagare le strutture molecolari. I progressi dell'elettrotecnica hanno permesso di costruire magneti ad altissimo campo, sfruttando la "superconduzione", cioè correnti elevatissime in conduttori tenuti a bassa temperatura. Con l'NMR si identificano i singoli atomi di carbonio e di idrogeno e, studiando contemporaneamente i due elementi, si vedono le loro connessioni. Inoltre, dato che gli atomi (i relativi nuclei) si influenzano anche nello spazio oltre che attraverso i legami, se ne deduce la reciproca posizione, cioè la stereochimica della molecola. Tenendo conto che i progressi dell'informatica rendono facilissimo l'accesso al confronto dei dati con quelli delle sostanze già note, si capisce come oggi l'identificazione di una nuova struttura – salvo sporadici casi – sia abbastanza agevole.

Negli anni nei quali nasceva l'NMR, i chimici hanno cominciato ad utilizzare la "spettrometria di massa" (MS). Il titolo spettrometria è preso in prestito, se così si può dire, dalle altre tecniche di indagine; qui, infatti, non sono protagoniste le onde elettromagnetiche, ma "fasci" o "raggi" formati da ioni. Come tutti sanno, gli ioni sono particelle, atomi o molecole, che portano una carica elettrica: ad esempio, strappando un elettrone alle molecole, queste diventano ioni positivi. Gli ioni hanno nell'aria una vita breve, ma nel vuoto possono sopravvivere a lungo; in virtù della carica possono essere "guidati" da campi elettrici o magnetici, piuttosto che disperdersi. In particolare, ioni di massa differente ma con uguale carica, attraversando un campo magnetico, subiscono una differente sorte: quelli più "pesanti" vengono meno deviati. Questo fatto permette di separare ioni di



**Fig. 3** L'MS9 della ditta A.E.I., costruito nel 1962, una delle macchine ad alte prestazioni sulle quali hanno lavorato i pionieri della spettrometria di massa organica.

diversa massa: così, Thomson ed Aston costruirono nel 1912 uno strumento che permise di scoprire l'esistenza degli isotopi. I primi spettrometri di massa commerciali (Figura 3), strumenti in grado di presentare un grafico nel quale erano registrate le tracce di ioni di differente massa, e le relative abbondanze, furono costruiti a Manchester (Regno Unito) [12]: la ionizzazione delle sostanze da analizzare era ottenuta con un fascio di elettroni.

Questo sistema di ionizzazione provoca allo stesso tempo una frammentazione della molecola (in ioni più "piccoli"), che dà luogo allo "spettro di massa" della sostanza in esame. Lo studio dei frammenti può dare in molti casi preziose informazioni sulla struttura della sostanza: in più, quasi sempre è possibile ottenere il peso molecolare, che spesso coincide con la massa di valore più alto visibile nel grafico.

Tutti gli spettri dei quali abbiamo fatto cenno rappresentano, al di là delle informazioni sulla struttura, una sorta di "impronta digitale" della sostanza, che può essere utilizzata per il confronto o con dati di cataloghi o di letteratura. Lo spettro di massa ha, per questo uso, un netto vantaggio rispetto agli altri: lo si può ottenere con quantità estremamente piccole, dell'ordine dei nanogrammi. Questo rendeva la spettrometria di massa uno dei più promettenti metodi per l'analisi di tracce: cosa che gli sviluppi successivi di questa tecnica hanno pienamente confermato.

A distanza di molti anni, possiamo vedere in quale direzione le diverse tecniche hanno progredito, avvalendosi anche degli straordinari progressi nella elettronica. Gli NMR sono diventate macchine che agevolano grandemente l'analisi delle strutture e rendono spesso superfluo l'uso di altre spettroscopie. Gli spettrometri di massa sono ben diversi anche

nell'aspetto dei loro antenati. Sono diventati di largo uso molti altri sistemi di ionizzazione: a differenza di quando si impiega un fascio di elettroni – metodo che richiede che la sostanza sia vaporizzata – vi sono metodi alternativi che permettono di operare con soluzioni, cioè con liquidi. Le macchine in commercio prevedono l'accoppiamento con "cromatografi", apparecchi dedicati alla separazione, utilizzando gas oppure liquidi. La spettrometria di massa è diventata la regina dei metodi chimico-analitici, impiegata nei campi più disparati; gli strumenti accoppiati ai gas cromatografi (GC-MS) sono diventati di routine in ogni laboratorio chimico (Figura 4).

Per la separazione di ioni con differente massa sono stati realizzati sistemi molto più semplici dei campi magnetici. Nell'analisi delle strutture, la spettrometria di massa è rimasta in uso solo per conoscere peso e composizione, cioè la sua "formula grezza". Infatti, essendo la massa corrispondente allo ione molecolare sufficientemente accurata, si può dedurre la formula molecolare, conoscendo dalle tabelle la massa esatta dei vari atomi.

Il progresso nella determinazione delle strutture ha portato a risultati straordinari. I vecchi chimici, abituati a manipolare le sostanze, a guardarne – se del caso – i cristalli al microscopio, ad eseguire delle reazioni adattandole o talvolta inventandole, rimpiangerebbero però i tempi nei quali la chimica era protagonista ed utilizzata con passione per strappare alla natura il segreto di una struttura molecolare.

## Fra ricordi e riflessioni

Chi ha scritto quanto sopra, per sua fortuna, ha vissuto personalmente il progresso nella determinazione di struttura di sostanze organiche. Ed ha avuto l'ulteriore fortuna di fare questo tipo di lavoro nel tempo in cui per determinare una struttura si mettevano insieme la chimica, con le sue reazioni, e le misure fisiche: le spettroscopie UV e IR, la NMR del protone, la MS. All'epoca tutti questi strumenti non erano interfacciati o asserviti ad un computer, e chi faceva ricerca operava di persona sugli strumenti. Il



**Fig. 4** Un moderno spettrometro di massa collegato ad uno strumento per cromatografia liquida (LC-MS).

compito di estrarre, isolare e purificare la sostanza da una matrice naturale era svolto dallo stesso ricercatore, da solo od in collaborazione. Parlo di un'epoca che io ritengo fortunata, perché il lavoro consentiva di conoscere l' "arte" del laboratorio in tutte le sue sfaccettature e di affinare la propria cultura chimica. Oggi la determinazione di una struttura appare come il risultato di una sorta di "catena di montaggio" nella quale vi è poco spazio per la creatività. Questo è quello che si deduce dalla lettura di molti lavori che appaiono sulle riviste specializzate del settore. Un gruppo si è occupato dell'estrazione e separazione, l'esperto (gli esperti) ha (hanno) determinato la struttura via NMR, possibilmente un terzo ha scritto il lavoro: ciascun gruppo sapeva poco del lavoro altrui, se non i risultati. Le sostanze nuove sono isolate nella quantità di pochi mg e sono quasi sempre olii o solidi amorfi, allorquando l'esperienza dice che sostanze di una certa complessità sono molto spesso cristalline.

Non vi è dubbio che, sotto l'aspetto funzionale, determinare una formula in pochi giorni, anziché in anni, rappresenti un progresso. Ma il progresso nella cultura chimica, che tanto deve alla identificazione delle strutture offerte dalla Natura, è certo che debba essere coltivato altrove.

### Bibliografia

- [1] <https://it.wikipedia.org/wiki/Morfina>
- [2] <https://it.wikipedia.org/wiki/Chinino>
- [3] J. M. Gulland, R. Robinson, *Memoirs and Proceedings of the Literary and Philosophical Society of Manchester*, 1925, 69, 79-86.
- [4] P. Rabe, E. Ackerman, W. Schneider, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 1907, 40, 3655-3658.
- [5] [https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic\\_radiation](https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_radiation)

- [6] [https://it.wikipedia.org/wiki/James\\_Dewey\\_Watson](https://it.wikipedia.org/wiki/James_Dewey_Watson)
- [7] <https://youmanist.it/categories/cultura/rosalind-franklin-dna>
- [8] <https://www.treccani.it/enciclopedia/spettroscopia/>  
<https://en.wikipedia.org/wiki/Spectroscopy#:~:text=In%20simpler%20terms%2C%20spectroscopy%20is,light%20dispersed%20by%20a%20prism>
- [9] F. Bloch, W. W. Hansen, M. Packard, *Physical Review*, 1946, 69, 127.
- [10] Come noto, quasi tutti gli elementi sono costituiti da miscele di isotopi che si distinguono solamente per una differente massa, a causa da un diverso numero di neutroni.
- [11] [http://www.mat.uniroma3.it/didattica\\_interattiva/aa\\_11\\_12/am310/10.fourier.pdf](http://www.mat.uniroma3.it/didattica_interattiva/aa_11_12/am310/10.fourier.pdf).
- [12] [https://www.asms.org/docs/default-source/history-posters/vendor-history---kratos\\_v2.pdf?sfvrsn=f6e71c3\\_0](https://www.asms.org/docs/default-source/history-posters/vendor-history---kratos_v2.pdf?sfvrsn=f6e71c3_0)

### Alcuni testi consigliati

- Per la storia della Chimica si veda, ad esempio: Salvatore Califano, *Storia della Chimica*, due volumi, Ed. Bollati Boringhieri, Torino, 2010 e 2011.
- Per i metodi fisici in chimica organica si veda, ad esempio: M. Silverstein, X. Webster, J. Kiemle, *Identificazione spettrometrica di composti organici*, Casa Editrice Ambrosiana, Rozzano (MI), 2016.