

## 1 LEZIONE

Per misurare una persona posso prendere un metro fare un segnetto vicino al muro e con il metro misuro; però, se devo misurare una formica non posso fare ugualmente, potrei prendere la formica e metterla vicino al righello, ma non è detto che possa usare lo stesso strumento di misura usato per misurare me stessa. Se devo misurare quanto ce n'è di una sostanza chimica in un campione, dal momento che la sostanza chimica ha una dimensione al di sotto anche della formica (siccome non abbiamo un microscopio per vedere le sostanze chimiche), allora non possiamo usare nemmeno il righello, dovremmo capire cosa di quella sostanza possiamo utilizzare per misurare quanto ce n'è di quella sostanza chimica. Quello che faremo in tutto il corso è *capire quali sono questi strumenti di misura e capire, in linea di massima, come si procede per misurare*. Misurare significa determinare la quantità di una sostanza, normalmente è la prima cosa che si chiede ad un chimico analitico perché il chimico analitico è un professionista che deve essere in grado di fare prima di tutto un'analisi quantitativa, ovvero determinare quanto ce n'è di quella sostanza e in base alla natura della sostanza capire qual è il metodo migliore per determinarla. Quindi, studieremo i metodi e le metodiche di misura. Conoscere com'è fatta una macchina, anche una macchina banale come può essere la bilancia, fa parte del bagaglio culturale che deve avere un chimico analitico, siccome solamente se uno è in grado di saper usare una macchina può capire se è quella che mi serve oppure me ne serve un'altra (se mi serve una bilancia tecnica o se mi serve una bilancia analitica, se mi serve uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo oppure uno ad alta risoluzione, se mi serve un UV oppure mi serve un assorbimento atomico).

Che cos'è la Chimica Analitica?

"E' l'arte di riconoscere le diverse sostanze e di determinare i loro costituenti" (definizione del 1894)

Tipologie di analisi

• Analisi **qualitativa**: identificare i costituenti di un campione

**Cos'è?**

• Analisi **quantitativa**: determinarne la quantità

**Quanto ce n'è?**

• Analisi **semiquantitativa**: determinazione approssimata con un ampio margine di errore (scopo: conoscere l'ordine di grandezza)

La chimica analitica nel 1894 è stata definita come:

"l'arte di riconoscere le diverse sostanze e di determinare i loro costituenti". All'epoca le sostanze potevano essere anche una miscela di sostanze, immaginiamoci di dover analizzare una zolla di suolo in un'aiuola, in una zolla di terra non c'è una sostanza ma ce ne sono tante, quindi devo usare dei metodi che mi permettono di riconoscere le diverse sostanze e capire quanto ce n'è di tutte queste sostanze e ciascuna

sostanza se è costituita da tante altre sostanze (ad esempio il granello di polvere è un composto chimico o ne contiene 10?). La chimica analitica si occupa di due cose:

- Misurare, quindi siamo nell' **analisi quantitativa**, determinare di ciascuna sostanza quanto ce n'è
- Conoscere e identificare, quindi siamo nell' **analisi qualitativa** in cui dobbiamo identificare i componenti di un campione. Immaginiamo che in quest'aula ognuno di voi è una sostanza chimica, posso contarvi e dire ci sono 70 persone, in questo modo faccio un'analisi quantitativa, però posso chiedervi nome e cognome, data di nascita etc. per cui identificarvi e capire che ognuno è un individuo a sé. La stessa cosa vale per l'analisi chimica della zolletta di terra. Possiamo sia prendere la zolletta di terra e dire che ci saranno 100 sostanze chimiche perché ho 100 segnali diversi nel mio strumento di misura oppure posso andare su ciascuna di quelle sostanze, cliccare su di essa e riconoscere ad esempio il cloruro di sodio oppure la diossina. Essi hanno un grado di pericolosità differente per cui è importantissimo sapere non solo quanto ce n'è di una sostanza e quanto di un'altra, ma anche qual è quella sostanza poiché, se in un campione di terra ci sono 10g di sodio, tutto sommato potrei utilizzare il suolo come fonte di sale, ma se c'è la diossina devo fare attenzione poiché non sarà un suolo coltivabile, a fine agricolo ma destinato ad altro (da qualsiasi analisi chimica c'è una normativa che ne deriva).

Tra l'analisi quantitativa e qualitativa ci sono varie sfumature e molti strumenti di misura, di identificazione diversi; esistono strumenti che mi possono identificare con precisione una sostanza organica a livello della stereochimica di ogni centro chirale che c'è (questo risulta complesso e non economico), può essere necessario e non è questo dipende dal mio obiettivo analitico. Oppure ci può servire sapere se c'è la diossina per distinguerla da un altro contaminante ambientale ad esempio il policlorobifenile. Poi potrei

voler sapere in linea di massima quanto ce n'è di una sostanza all'interno del suolo (10g? 5g?) oppure bisogna sapere esattamente quanto ce n'è (5g, 511,3 microg?). Devo capire se è necessaria un'analisi quantitativa accurata o se voglio fare una analisi *semi-quantitativa*, ovvero dire approssimativamente (con un ampio margine di errore) quanto ce n'è di una sostanza in un campione.

Ai fini pratici cosa cambia tra i due tipi di analisi? Qual è lo svantaggio e qual è il vantaggio della semiquantitativa rispetto alla quantitativa? Sicuramente la semiquantitativa è più veloce, posso capire in minor tempo il range, l'intervallo di ordine di grandezza e questo mi può servire se in un terreno dobbiamo avere un massimo di, ad esempio 1mg di diossina, basta capire se ce n'è 1mg e non serve sapere la misura esatta (ad esempio un nanogrammo che comporterebbe metodi più sensibili, più tempo etc.). Se, invece, mi serve sapere esattamente quanto ce n'è dovrò fare molte più analisi. L'analisi semiquantitativa è anche meno costosa, poiché per capire se una sostanza c'è o meno in un certo intervallo farò una o due analisi di un campione. Per fare un'analisi quantitativa e capire, quindi esattamente quanto ce n'è devo usare strumenti di misura più performanti, più accurati e più precisi (più cresce l'accuratezza e la precisione in uno strumento di misura, più costa). Inoltre, devo fare più analisi per capire esattamente se quel risultato è valido ai fini dei miei scopi analitici.

## Qual è il ruolo della chimica analitica?

### Produzione industriale

- Controllo dei materiali in ingresso ( → rapporto con i fornitori) e in uscita ( ← rapporto con i clienti)
- Controllo dei processi → feedback alla produzione
- Controllo dei prodotti finiti → feedback alla produzione

### Ambiente

- Determinazione dei contaminanti antropogenici e naturali in suolo, acqua, aria, alimenti

### Salute

- Sviluppo e controllo di qualità dei farmaci
- Analisi cliniche e forensi

### Scienze

- Biologia, informatica, geologia, archeologia e beni culturali, ...

<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02269707>

### Ricerca

- Nuovi metodi di analisi
- Nuove sostanze o prodotti (farmaci, materiali...)

Queste tre metodiche, approcci di analisi: semiquantitativa, quantitativa e qualitativa lo si fa a più livelli. Lo si può fare ad esempio in un'industria alimentare, il chimico analitico deve creare un alimento, userà delle sostanze chimiche non dannose per la salute ed interviene: -a livello del *controllo dei materiali di ingresso*, quindi il rapporto con i fornitori; per la produzione di pizza, ad esempio, se mi accorgo che il cloruro di sodio non è abbastanza puro (facendo delle analisi di purezza), è mio compito mettermi in contatto con il fornitore. Ma anche controllo dei materiali in uscita, quindi il rapporto con i clienti

ed in base alle loro lamentele tornare indietro sul processo di produzione e capire se qualche macchina ha commesso qualche errore (ad esempio ha utilizzato meno sale o il sale venduto non è buono). Questo esempio è banale, ma si riporta anche in un'industria farmaceutica. Immaginiamo che in questa industria si sta sviluppando un farmaco antitumorale, per la sintesi di partenza c'è bisogno di un prodotto che costa tanti soldi e viene prodotto solo da un'azienda X, quel prodotto che arriva e che deve essere utilizzato per la sintesi lo devo controllare quando arriva e quando il farmaco sarà pronto dovrò controllare, con l'opportuno metodo analitico scelto, qual è la qualità di quella compressa che è venuta fuori, controllare se c'è il principio attivo, quanto ce n'è, qual è il suo grado di purezza, quanto ce n'è rispetto agli eccipienti etc.

-*controllo dei processi*: se alla fine di un processo industriale, ad esempio la produzione di un farmaco antitumorale, trovo che quella compressa non rispetta i criteri di qualità che mi sono data, allora dovrò capire a quale livello del processo di produzione sta il problema. Per controllare questo ci sarà bisogno di un metodo analitico definito per controllare solo quello step e non tutti, altrimenti ci vorrebbe troppo tempo.

-*controllo dei prodotti finiti*, quindi il feedback alla produzione: è successo che un farmaco una volta immesso in commercio veniva ritirato (spesso viene ritirato perché si trovano problemi nell'uomo), ma a volte viene ritirato temporaneamente non a causa del principio attivo che non faceva effetto, ma perché nel processo di produzione, insieme alla sintesi del principio attivo, si sono sintetizzati anche dei prodotti collaterali della sintesi di quel farmaco. È difficile che il farmaco abbia il 100% di purezza.

Se le impurezze hanno anche loro un effetto su qualche tipo di recettore o sulla salute della persona, allora può essere necessario ritirare quel prodotto. In tempi rapidi bisogna capire cosa c'è che non va in quel farmaco: si fanno i saggi farmacologici, ma prima di tutto si fanno le analisi chimiche per capire cosa

effettivamente contenessero quelle compresse che hanno fatto male, indipendentemente da quello che è riportato in etichetta.

-La chimica analitica ha un ruolo anche a *livello ambientale*: importante è l'impatto della chimica analitica in tutto l'ambito ambientale. Ci sono tutta una serie di contaminanti che si chiamano 'antropogenici', cioè che sono creati dall'uomo: immaginate il PFOA e il PFAS (sostanze generate durante il processo di produzione del film che ricopre le padelle antiaderenti) che hanno contaminato completamente le falde acquifere nella regione del Veneto, Pianura Padana e così via, con effetti notevolmente gravi sulla salute umana delle persone che vivevano in quelle zone. Di ciò se ne sono accorti proprio facendo l'analisi dei suoli, delle acque e vedendo contemporaneamente la tossicità che queste sostanze avevano sulla salute umana. Ormai PFOA e PFAS li hanno ritrovati anche nel sangue (giusto per capire a che livello è ormai arrivata la contaminazione). La stessa cosa vale per tanti tipi di contaminanti alimentari antropogenici, come le *diossine*, le PCB, quelle sostanze che sono nelle plastiche che ricoprono gli alimenti, oppure plastiche che vengono usate per uso non alimentare. Tutte le analisi di queste sostanze si fanno mediante metodi chimici e analitici. Analogamente ci sono tutta una serie di *sostanze naturali* prodotte ad esempio dalle microalghe marine (che neanche si vedono nelle acque del mare), oppure da piccoli organismi che proliferano nelle acque dolci (che si chiamano cianobatteri), oppure da funghi (i miceti) che possono contaminare le spighe di grano, le spighe di mais, le farine, nonché *tossine* prodotte dalle piante (pensate alle patate quando fanno quel 'germoglietto': se si va a prendere quel germoglietto e lo si estrae, si tira fuori una sostanza molto tossica). Le microalghe marine possono contaminare la catena alimentare perché ci sono i molluschi (le cozze, le vongole), ma anche i pesci che si nutrono di quello che c'è nel mare, usandole come fonte di nutrimento. Quando queste specie di alghe producono sostanze tossiche, queste ultime si accumulano nella catena alimentare e possono arrivare all'uomo.

Per determinare la presenza di tutte queste cose ci vuole un chimico analitico, perché deve vedere qual è la sostanza, guardarla, trovare il metodo, mettere a punto il metodo, preparare lo strumento, usare lo strumento e determinare la sostanza nell'ambiente.

-La chimica analitica ha anche un ruolo nello *sviluppo e controllo di qualità dei farmaci*, ma anche nelle *analisi cliniche e cliniche forensi*. Una persona va in overdose da cocaina o eroina, va in ospedale, dove alla persona (che è svenuta, si è sentita male ed è priva di coscienza) non si può chiedere cosa ha preso, se ha preso qualcosa, se gli è venuto un infarto, ecc. Quindi, per capire qual è il motivo per cui il soggetto si è sentito male, spesso si fanno le analisi del sangue: alcune sostanze (compresse cocaina ed eroina) potete, come tali o sottoforma di metaboliti, rilevarle nel sangue. Quindi, una semplice analisi del sangue può dire se quella persona si è sentita male perché gli è venuto un infarto, oppure si è sentita male perché ha preso troppa cocaina o troppa eroina. In realtà, già analizzare il sangue significa analizzare una matrice abbastanza complessa, ricca, e serve che una persona prelevi il sangue. I capelli sono come le foglie degli alberi. Spesso nelle foglie degli alberi si ritrovano le sostanze che stanno nel suolo, allo stesso modo nei capelli, in alcuni casi è possibile trovare le sostanze che abbiamo assunto.

Esistono tanti studi, per esempio, per la determinazione del tetraidrocannabinolo dai capelli: basta prendere un capello ad una persona per vedere se quella persona ha preso la marijuana (ad esempio) oppure no. Queste sono tutte cose applicate, per esempio, dalla polizia scientifica per determinare la presenza delle droghe, dei veleni, ecc.

-Ancora la chimica analitica ha un ruolo nelle *scienze*: biologia, informatica, geologia, archeologia ecc.

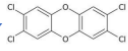
-Infine, ha un ruolo nella *ricerca*, dove generalmente ci si concentra in nuovi metodi di analisi e nuove sostanze o prodotti (tipo farmaci, materiali naturali, antropogenici e così via).

# Alcune keywords

- **Campione:** frazione rappresentativa di un materiale, prelevato e analizzato per determinarne la natura, la composizione, la concentrazione di alcuni costituenti, oppure la reattività



- **Analita:** componente (ione, molecola...) cercato (analisi qualitativa o quantitativa) in un campione



- **Matrice:** il mezzo in cui si trova l'analita



## Differenza tra **analisi** e **determinazione**:

analizzo un campione –determino la concentrazione di un analita. (es. analizzo il terreno di un'aiuola e determino in essa la concentrazione di diossina)

Dato che tutto quello che riguarda la chimica analitica è una misura, saper usare le parole corrette è importantissimo. Definiamo alcuni concetti.

-Il **CAMPIONE** è una frazione rappresentativa di un materiale e che viene analizzato, nell'ambito dell'analisi chimica, per determinare qual è la sua natura, qual è la composizione (quali sono i componenti chimici che lo compongono) e qual è la concentrazione di alcuni costituenti fondamentali oppure la reattività di questi componenti, e così via.

Ad esempio, in un'aiuola, non mi metto a determinare il

suolo, ma mi metto ad analizzare il suolo: analizzo un campione, in quanto io voglio cercare nel campione qualcosa, cioè una sostanza chimica particolare. Questa sostanza chimica particolare non si chiamerà 'campione' (perché il campione è il tutto in cui vado a cercare la sostanza chimica), ma si chiamerà 'analita'.

-L'**ANALITA** è quella molecola (organica o inorganica che sia, allo stato neutro o allo stato di ione che sia), quella sostanza chimica, quel componente che viene ricercato in un campione.

Quindi, il campione non è tutta l'aiuola, ma una parte dell'aiuola, perché se io devo cercare, per esempio, la diossina (che sarebbe un analita) in quest'aiuola, non è che prendo tutta l'aiuola, la porto in laboratorio e cerco la diossina (perché avrei a che fare con centinaia di kg di terreno e sarebbe una cosa impossibile).

Quindi, devo prendere un campione da questa 'aiuola', cioè un pochettino di quest'aiuola (una zolla di terra per esempio), che devo portare in laboratorio, devo trattare in maniera opportuna, trovare un metodo adatto a cercare l'analita di mio interesse (cioè la diossina), e cercare con quel metodo di capire se in quella zolla di terra ci sta la diossina (se è veramente diossina oppure è un'altra cosa) e quanta ce n'è. Quindi io sto analizzando un campione, sto cercando un analita. Per cercare l'analita posso fare: l'analisi qualitativa o l'analisi quantitativa o l'analisi semiquantitativa. Normalmente *si fa prima l'analisi qualitativa*, cioè si capisce prima che cosa c'è in quel campione; *poi si fa un'analisi semiquantitativa*, cioè si capisce l'ordine di grandezza in cui la diossina si trova in quel campione; e *poi si fa l'analisi quantitativa*, per capire esattamente quanti microgrammi o milligrammi o grammi di diossina ci sono in quel campione.

Quindi il campione è la zolla di terra e l'analita è la diossina, in questo caso specifico.

Però quando porto la zolla di terra in laboratorio, devo fare la '**PREPARAZIONE DEL CAMPIONE**', cioè cerco di separare l'analita dalla matrice, ovvero di separare la diossina da tutto il resto che c'è nella zolla di terra.

-La **MATRICE** è il mezzo in cui si trova l'analita, e in cui, oltre all'analita, ci saranno tante sostanze contaminanti, potenziali interferenti.

Immaginate un terreno su cui, per coltivare delle piante, è stato inserito del concime o compost (organico o inorganico da cui vengono fuori tante sostanze chimiche). Vado a prendere una zolla di terra per vedere se c'è la diossina (che voglio cercare, per cui è il mio obiettivo analitico, ad esempio, coltivare dei pomodori), se è presente la diossina non posso andare a coltivare quel terreno, altrimenti otterrò prodotti che contengono la diossina e quindi, una volta ingeriti tali prodotti, ritroveremo la diossina all'interno del nostro sangue. Quindi che cosa faccio? Devo prendere questa zolla, uso dei metodi opportuni per la preparazione del campione per estrarre il mio analita, ovvero la diossina, da tutto il resto.

Però tutte le sostanze che stavano nel compost (anche quelle sono sostanze organiche) le potrei trovare sul liquido che si trova qui sopra (superficie del liquido indicato con il cerchio rosso).

Queste sostanze magari non interferiscono con la mia rivelazione, ovvero con il metodo che ho utilizzato per rilevare la diossina, però forse possono interferire e potrebbero falsare sia in positivo che in negativo il risultato. Quindi, potrebbero affermare l'assenza della diossina nel campione perché semplicemente la mascherano, oppure potrebbero affermare che c'è una sostanza che sembra diossina ma non lo è, quindi avere un falso positivo, ovvero affermare che nel campione c'è diossina, ma in realtà non c'è.

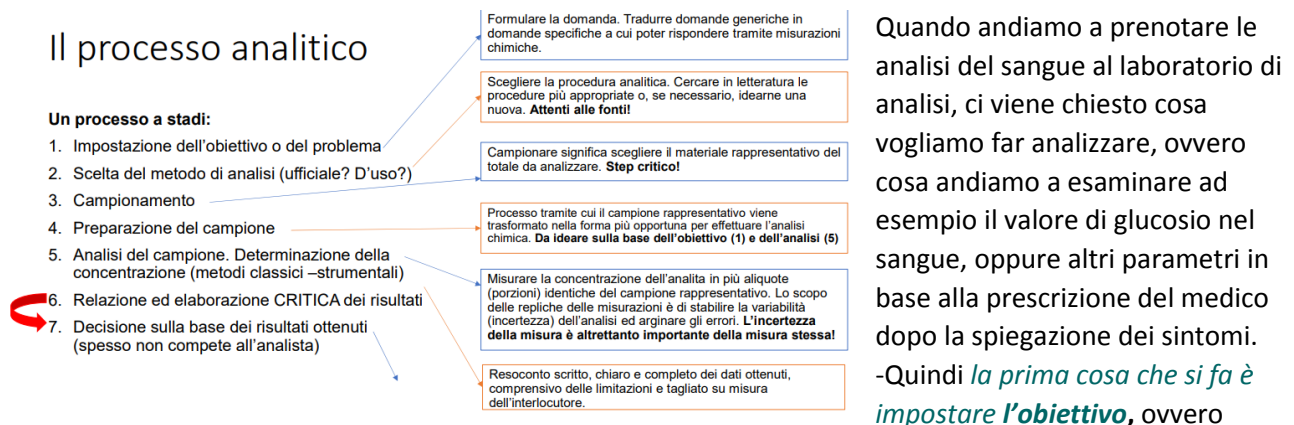
*La matrice è un componente di ciascun campione quando viene trattato in laboratorio.* Ci sarà l'analita e la matrice: l'analita è la sostanza che cerchiamo, mentre la matrice è tutto il resto che potrebbe interferire con la rivelazione dell'analita. Questi 3 termini (CAMPIONE, ANALITA, MATRICE) sono termini importanti da acquisire.

Altra cosa importante su cui possiamo fare confusione è *la differenza tra analisi e determinazione.* Si analizza un campione: ad esempio quando andiamo a prelevare il sangue, noi facciamo l'analisi del sangue non la determinazione. Il biologo prende il campione sangue e cerca nel campione sangue una serie di analiti come ad esempio: il glucosio, il colesterolo ecc. È un'analisi chimico-clinica, infatti in laboratorio si fanno analisi chimiche. Quindi stiamo facendo un'analisi del campione.

Però di che cosa andiamo a determinare quanto ce n'è? Di un analita. Quindi quando dobbiamo trovare la diossina nel suolo, non dobbiamo fare l'analisi della diossina, ma dobbiamo fare l'analisi del campione di terra e determinare la presenza della diossina in quel campione. Quindi facciamo l'analisi del sangue e determiniamo la presenza di glucosio nel sangue. Quindi, **ANALISI QUANDO CI RIFERIAMO AL CAMPIONE, DETERMINAZIONE QUANDO CI RIFERIAMO ALL'ANALITA.**

*Determinazione* significa due cose: capire che l'analita è la diossina e non un'altra sostanza, e capire quanto ce n'è. Quindi fare una determinazione di una determinata sostanza (in questo caso della diossina) significa *fare sia un'analisi quantitativa che qualitativa* (altrimenti dobbiamo parlare o solo di determinazione quantitativa o solo di determinazione qualitativa, ma quando diciamo genericamente 'determinazione' ci riferiamo a entrambe le cose).

## IL PROCESSO ANALITICO



dobbiamo precisare che non dobbiamo fare l'analisi del sangue in generale, ma stiamo cercando un parametro specifico, in modo da avere impostato un obiettivo in ambito di chimica analitica. Impostare un obiettivo è una delle cose più importanti in chimica analitica e bisogna farlo all'inizio dell'esperimento. Se non si imposta bene, dall'inizio, l'obiettivo sperimentale si rischia di spendere tanti soldi, di fare fatica e di trovarci con una molteplicità di dati e non sappiamo cosa farne o come maneggiarli, in quanto sono tantissimi numeri da analizzare. **FORMULARE LA DOMANDA, IMPOSTARE L'OBIETTIVO DEL PROBLEMA È LA COSA FONDAMENTALE.** Bisogna formulare la domanda, e tradurre domande generiche in domande specifiche.

Nel caso dell'aiuola analizzato prima, l'obiettivo analitico era capire se il terreno del giardino è un terreno adatto ad essere coltivato. Se questo è il mio obiettivo analitico, in questo terreno non cerco tutto ma cercherò quei composti organici e inorganici che non devono essere presenti nel terreno, perché se sono presenti in quel terreno me lo rendono non coltivabile. Se il terreno contiene la diossina non è coltivabile, ma anche se contiene il cadmio (che è un metallo pesante tossico per la salute umana) non è coltivabile. Quindi devo capire per prima cosa il mio obiettivo: ovvero se il terreno è coltivabile e posso piantare i pomodori ad esempio. Quindi traduco l'obiettivo generico in domande più specifiche, ovvero 'cosa cercare?'. Potrei ad esempio vedere se c'è l'ammonio, il quale potrebbe essere utile ma non è necessario perché l'ammonio favorisce la crescita di una pianta ma può non essere tossico per noi. Quindi devo cercare se ci sono sostanze tossiche che possono essere accumulate nei pomodori. Quindi cercherò la