

# La scienza della separazione in Italia e in Europa

di Francesco Dondi e Corrado Sarzanini

*La scienza delle separazioni è la visione unificata ed unificante dei vari metodi e tecniche di separazione ad alta efficienza quali le cromatografie e le elettroforesi. Vengono qui illustrate le iniziative italiane ed europee di scienza delle separazioni, unitamente alle più rilevanti novità riguardanti industria, scienze della vita, riconoscimento molecolare, materiali, ambiente ed alimenti.*

Nel segno del titolo dello splendido testo di J.C. Giddings: "Unified Separation Science" che disegna una visione unificante ed unificata delle varie metodiche e tecniche separative cresce e si sviluppa in Italia, come in Europa e negli Stati Uniti, il termine di scienza delle separazioni. La "Separation Science" raggruppa ed unifica quindi tecniche variate ed in taluni casi apparentemente lontane quali le cromatografie, le tecniche elettroforetiche, la sedimentazione, le tecniche di frazionamento in campo flusso.

Le associazioni accademiche e culturali che si occupavano di cromatografie o di elettroforesi stanno mutando i loro nomi. In Italia è nato il Gruppo Interdivisionale di Scienza delle Separazioni della Società Chimica Italiana. In Europa sta nascendo, su iniziativa di H. Frank (D), U. Brinkman (NL), G. Bonn (A) e di F. Dondi (I), la European Society for Separation Science (EuSSS) che sta raccogliendo le adesioni dei Gruppi di Separation Science di Austria, Francia, Regno Unito, Germania, Ungheria, Polonia, Spagna, Repubblica Ceca, Slovacchia, Slovenia, Croazia, Norvegia, Svezia, Russia. I ricercatori che si occupavano tradizionalmente di cromatografie, di elettroforesi e tecniche correlate, anche attraverso queste attività, esprimono la co-

F. Dondi, Coordinatore pro-tempore del Gruppo Interdivisionale di Scienza delle Separazioni - Università di Ferrara. F.Dondi@unife.it; C. Sarzanini, Rappresentante nel CEGSS (Central European Group for Separation Sciences) - Università di Torino. corrado.sarzanini@unito.it

scienza di avere di fronte a sé un'importante e rinnovata missione: quella di affrontare con mezzi ed approcci culturali più potenti l'inesauribile richiesta di decodificare la complessità chimica attraverso la separazione.

In più, in Europa i ricercatori di scienza delle separazioni ritengono di dover accompagnare lo sviluppo dell'integrazione europea con pari iniziative, dando voce al ruolo ed alle esigenze della scienza, come elemento importante di costruzione di una nuova patria comune.

## Cosa c'è di nuovo nel mondo della scienza della separazione?

Riportiamo i risultati che per certi versi ci sono apparsi più significativi nei congressi internazionali del mese di settembre 2002 di Torun (P) (8<sup>th</sup> International Symposium on Separation Sciences) e Lipsia (D) (24<sup>th</sup> International Symposium on Chromatography).

La nostra rassegna è necessariamente limitata, sia perché a questi ultimi due congressi sono stati presentati più di mille contributi, sia perché si sono svolti recentemente molti altri congressi di grandi dimensioni o di elevato contenuto specifico. Ad esempio non possiamo non ricordare il prestigioso Congresso di Riva del Garda (25<sup>th</sup> International Symposium on Capillary Chromatography, maggio 2002). Volentieri informiamo i lettori de *La Chimica e l'Industria* sugli aspetti più rilevanti e le novità dal mondo della scienza delle separazioni emer-

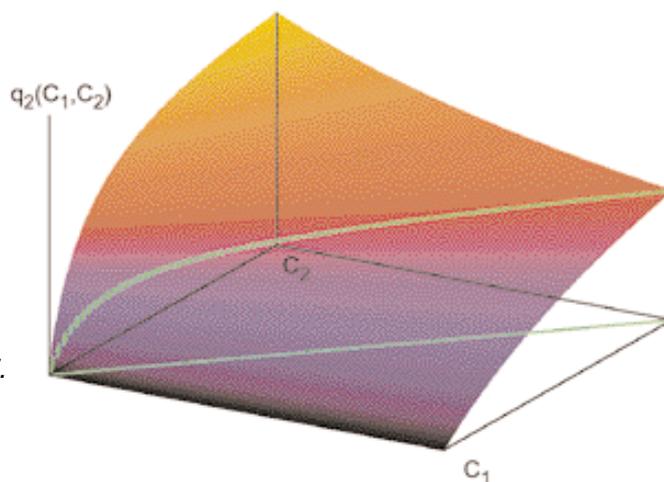


Figura 1 - Isoterma competitiva di adsorbimento per la separazione di due enantiomeri (modello BiLangmuir competitivo) (V. note)

se a Torun ed a Lipsia. L'aspetto più rilevante, e che sempre stupisce il chimico che frequenta questi congressi, è l'inesauribile varietà di problemi pratici risolti attraverso la scienza delle separazioni. Non v'è campo delle scienze applicate - biologia, medicina, scienze del farmaco, scienza degli alimenti, materiali ecc. - che non veda le cromatografie o le elettroforesi operare e risolvere. Focalizziamo pertanto la nostra rassegna sui seguenti settori.

## La scienza delle separazioni per l'industria

La scienza delle separazioni per l'industria come metodo di preparazione di composti puri ha superato lo stadio dell'approccio empirico. Georges Guiochon - lo scienziato che ha trasformato la cromatografia preparativa in solido metodo basato sulla modellizzazione ed ottimizzazione della separazione (Figure 1 e 2) - ha presentato a Lipsia una comunicazione sulla cromatografia preparativa di varianti dell'insulina. Le applicazioni della cromatografia preparativa e del metodo di Simulated Moving Bed (SMB) (Lipsia: M. Johannsen, Amburgo, D: Simulated moving bed chromatography with supercritical fluids, for successful separations of enantiomers and other isomers) nel

settore della chimica fine rappresentano un sicuro settore nel quale i ricercatori della scienza delle separazioni, chimici industriali ed ingegneri chimici, chimici organici e farmaceutici possono trovare un comune campo di attività e di sviluppo tecnico-scientifico. Significativi avanzamenti sono stati raggiunti nella cromatografia per il controllo di processo attraverso l'impiego di sistemi multipli di rivelatori-colonne ad alta efficienza nel monitoraggio di processo nell'industria petrolchimica o nel trattamento delle acque (Lipsia: Lynch, Muller, Wortenberg).

#### Le scienze della vita

La scienza delle separazioni per le scienze della vita continua a configurarsi come tecnica principe per lo sviluppo di ricerche di frontiera. L'analisi chimica di una singola cellula è una delle sfide

Monaco, D: Multidimensional on-line solid-phase extraction and LC-analysis of biofluids). La proteomica, la metabolomica costituiscono i settori di punta nei quali le tecniche cromatografiche ed elettroforetiche (LC, CE, 2D-Page ecc.) combinate con le spettrometrie di massa (pure metodi separativi!) rappresentano il reale motore di avanzamento scientifico.

#### La sicurezza

La scienza delle separazioni per la sicurezza (tossicologia ed ambiente) è uno dei settori assolutamente rilevanti per le gravi problematiche ambientali e di sicurezza che ci concernono. Assai significativa appare la linea di ricerca condotta sull'impiego di immunoadsorbenti e di molecular imprinted polymers per l'estrazione selettiva (Lipsia: gruppo di M.C. Hennion, Paris, F)

parazione, l'identificazione e la quantificazione degli isomeri biologicamente importanti per il decorso della dieta.

#### Materiali innovativi

Lo sviluppo di materiali come mezzi di separazione ha da sempre costituito un settore fondamentale per lo sviluppo di colonne di separazione sempre più efficienti e di dimensioni ridotte. Segnaliamo l'importanza delle colonne monolitiche sviluppate da Nabuo Tanaka (presente sia a Torun sia a Lipsia, dove ha ricevuto il prestigioso premio Silver Jubilee Medal della Chromatographic Society). Queste colonne sono costituite da un materiale siliceo poroso continuo e hanno il grande vantaggio di operare con perdite di carico inferiori alle tradizionali colonne impaccate, assicurando un'efficienza paragonabile o superiore. Segnaliamo inoltre la presentazione, a Torun, di M. Jaroniek (Kent, Usa) sullo sviluppo di silici mesoporose ordinate.

#### Il riconoscimento molecolare

Le tecniche cromatografiche ed elettroforetiche hanno rappresentato indubbiamente i metodi di separazione più efficienti a disposizione del chimico. Attraverso questa via un numero enorme di composti è stato separato ed identificato. Ricordiamo gli ormoni, le proteine, gli acidi nucleici, la sconfinata serie di prodotti naturali derivati da piante. La tendenza più attuale, che costituisce una sfida per i ricercatori della scienza delle separazioni, è quella del riconoscimento molecolare. Un settore ben noto è costituito dal riconoscimento chirale, che ormai si sta configurando come una disciplina a sé stante con congressi specifici. Ai congressi di Lipsia e Torun sono state presentate rassegne del settore (W. Linder, Vienna) ed un elevato numero di comunicazioni. Segnaliamo il contributo assolutamente importante, ancora di Klaus Albert (Tubinga, D) e presentato a Torun, sull'impiego delle tecniche Nmr (tr-NOESY e HR-MAS) nello studio dell'interazione tra substrati e fasi stazionarie cromatografiche. Questi rilevanti contributi sperimentali - associati ad una chimica sintetica mirata alla preparazione di selettivi specifici ed agli avanzamenti dei modelli microscopici stocastici della separazione cromatografica - costituiranno sicuramente la base per una nuova stagione della separazione, basata sul controllo del riconoscimento molecolare.

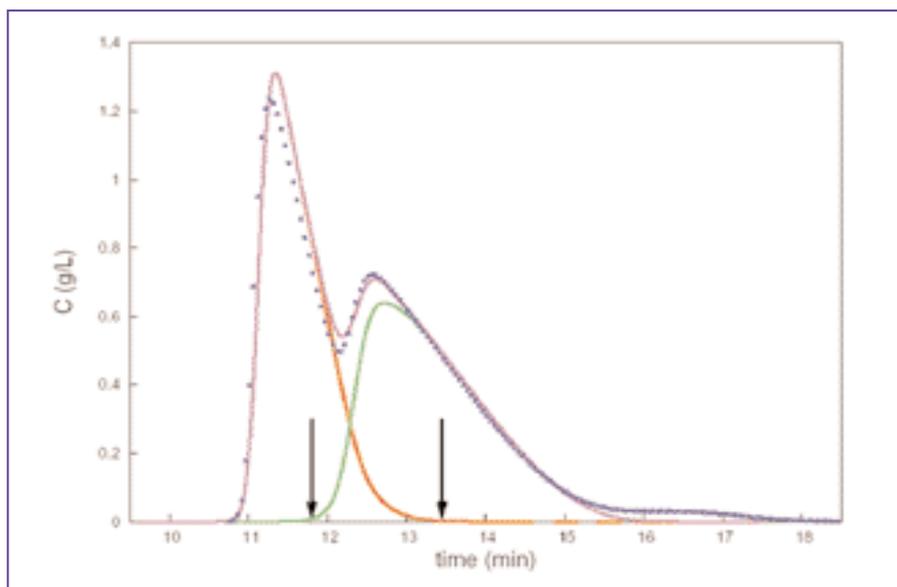


Figura 2 - Ottimizzazione della separazione di una miscela racemica (V. note)

aperte su cui la GC/MS, HPLC/MS<sup>n</sup>, la citometria chimica (S.N. Krylov, Toronto, Canada: Chemical Cytometry: where microseparation meets cell biology) e l'elettroforesi nanocapillare (A. Ewing, Penn, Usa: nano-CE, 12 femtoL di campione analizzati per la determinazione di istamina e serotonina) stanno dando risposte concrete nella caratterizzazione del profilo metabolico e del mRNA. Contributi poderosi, per lo sviluppo della chimica clinica, continuano ad arrivare dalla scienza delle separazioni passando attraverso un concetto multidimensionale di trattamento del campione nella fase di pre-separazione e una separazione/identificazione dei fluidi biologici (K.S. Boss,

#### Il controllo degli alimenti

Assistere ai congressi in materia è sempre assolutamente piacevole, non solo per un chimico ma anche per un non esperto del settore, infatti le novità non finiscono di stupire e sono spesso assolutamente pirotecniche. Segnaliamo il fantasmagorico lavoro presentato da Klaus Albert (Tubinga, D), a Lipsia, sull'analisi di carotenoidi biologicamente attivi (luteina e zeaxantina) presenti negli spinaci (importanti per talune malattie della retina) ottenuta accoppiando Hplc con MS ed Nmr. In questo caso l'analisi è stata effettuata direttamente sui fluidi biologici, per un controllo dell'efficienza della dieta, ed ha comportato la se-

## Conclusioni

Abbiamo scritto questa rassegna per evidenziare ai colleghi Chimici, lettori de *La Chimica e l'Industria*, come la Separation Science sia un settore assolutamente vitale. La Separation Science è infatti, prima di tutto, e sostanzialmente una scienza pratica, problem solving, che separa, identifica e quantifica i composti chimici e quindi decodifica la complessità chimica del mondo naturale. La sua vitalità è ancora piena e può costituire un campo nel quale le energie dei giovani ricercatori possono misurarsi in sfide reali per un reale progresso di conoscenze, di rinnovate produzioni rispettose dell'ambiente e per la sicurezza comune, al servizio delle scienze della vita e dei nuovi materiali. La Separation Science è stata ed è, per il chimico, una importante interfaccia con altre scienze. Questa interfaccia ha dato, da sempre, grande reputazione ai chimici. Riteniamo pertanto che questo ambito debba essere coltivato, anche da un punto di vista organizzativo. La scienza delle separazioni tuttavia non è un club ristretto ma ad esso partecipano chimici di tutte le estrazioni, a partire dai chimici analitici, ma includendo i chimici organici, farmaceutici, dell'ambiente, degli alimenti, biochimici, industriali, applicati. In Italia il Gruppo Interdivisionale di Scienza delle Separazioni della Società Chimica Italiana è aperto a tutti i ricercatori interessati alla separazione chimica.

## Note

Le Figure 1 e 2 (per cortese concessione da A. Cavazzini e G. Guichon) illustrano come nella moderna cromatografia preparativa si ottimizzi una separazione di una miscela racemica (Figura 2) partendo dalla determinazione dell'isoterma di adsorbimento (Figura 1). Nella Figura 1  $C_1, C_2$  rappresentano le concentrazioni nella fase mobile rispettivamente per il primo e per il secondo enantiomero.  $q_2(C_1, C_2)$  rappresenta la concentrazione di equilibrio nella fase stazionaria dell'enantiomero più ritenuto (per ogni composizione della fase mobile). La curva tratteggiata, la cui proiezione sul piano  $C_1 C_2$  ha equazione  $C_1 = C_2$ , rappresenta l'isoterma di adsorbimento per la miscela racemica. L'intersezione della superficie tridimensionale con il piano  $q_2 C_2$  è l'isoterma di adsorbimento per l'enantiomero più ritenuto puro ( $C_1 = 0$ ). La determinazione sperimentale dell'isoterma rappresenta il primo step fondamentale per l'ottimizzazione della separazione/purificazione in condizioni non lineari.

La Figura 2 illustra come, risolvendo l'equazione differenziale di bilancio di massa che descrive il sistema in esame, una volta noti i parametri dell'isoterma di adsorbimento, sia possibile prevedere l'andamento della separazione e scegliere le condizioni ottimali. I picchi misurati sperimentalmente (punti blu) sono confrontati con quelli simulati (curva rossa: componente meno ritenuto; curva verde: componente più ritenuto; curva viola: somma dei due). Le frecce nere indicano i tempi in cui occorre interrompere la raccolta della frazione pura del componente meno ritenuto (attorno a 11,9 min.) oppure iniziare la raccolta della frazione del secondo componente puro (attorno a 13,3 min.).