

49. Franco RASETTI. — Gli isotopi radioattivi ed i principi fisici del loro uso come indicatori (*).

Il grande sviluppo assunto negli ultimi anni dalle ricerche per mezzo di indicatori radioattivi nei campi della chimica e della biologia ha reso questa tecnica talmente importante da non poter essere ignorata da alcun cultore di questi rami della scienza. Nel breve spazio di questa relazione dobbiamo limitarci ad esporre i principi generali del metodo. Una trattazione estesissima e un elenco bibliografico dei lavori, completo fino a tutto il 1947, sono stati recentemente pubblicati ⁽¹⁾ e ad essi rimandiamo chi desiderasse ulteriori informazioni.

IL NUCLEO E L'ISOTOPIA

Tutta la materia è costituita di atomi e ogni atomo è formato di un *nucleo* centrale e di un certo numero di elettroni che gli girano attorno. Il nucleo contiene quasi tutta la massa dell'atomo, gli elettroni essendo leggerissimi. Il nucleo possiede una carica elettrica positiva, gli elettroni cariche negative. Poiché la materia nel suo stato normale è elettricamente neutra, gli elettroni di ciascun atomo devono neutralizzare esattamente la carica del nucleo. Infatti si trova che la carica nucleare è sempre un multiplo esatto della carica elettronica. Inoltre, il numero di elettroni nell'atomo determina quasi tutte le proprietà chimiche e fisiche dell'atomo stesso, quindi caratterizza l'elemento chimico; siccome a sua volta il numero di elettroni è determinato dalla carica nucleare, o *numero atomico* Z , ne consegue che il numero Z definisce completamente l'elemento chimico. Esso è uguale al numero d'ordine che l'elemento occupa nel sistema periodico. Così per esempio il sodio è l'undicesimo elemento, quindi il suo nucleo ha carica elettrica $+11$ (prendendo come unità la carica dell'elettrone) e si circonda di 11 elettroni.

Si sa inoltre che gli atomi che compongono un elemento chimico non sono, in generale, tutti uguali tra di loro, ma possono essere di due o più specie (fino a una decina), rappresentate in percentuali invariabili (salvo eccezioni per i prodotti delle trasformazioni radioattive) qualunque sia la provenienza dell'elemento. Queste diverse specie di atomi hanno la stessa carica nucleare ma differiscono per la massa, o peso atomico, e si chiamano *isotopi*. Il peso atomico medio di un elemento, usato dai chimici, non è che un valor medio delle masse dei diversi isotopi che costituiscono un elemento. Ogni isotopo ha un peso atomico rappre-

(*) Conferenza tenuta nell'Istituto Superiore di Sanità il 27 gennaio 1949.

(1) An International Bibliography on Atomic Energy, Scientific aspects, United Nations Atomic Energy Commission (1948).

sentato con grande approssimazione da un numero intero nella scala dei pesi atomici; tale numero intero è detto il *numero di massa* A dell'isotopo. Per indicare un isotopo basta dare i due numeri interi Z e A ; questi abitualmente sono scritti come suffissi accanto al simbolo dell'elemento. Così il sodio, che ha peso atomico quasi esattamente intero, si compone di un solo isotopo Na_{11}^{23} ; mentre il litio, di peso atomico 6,93, si compone di due isotopi Li_3^6 e Li_3^7 in percentuali tali da dare quel peso medio.

La somiglianza delle proprietà fisiche e chimiche dei diversi isotopi che compongono un elemento è tale da renderne estremamente difficile la separazione. Questa è stata effettuata recentemente mediante l'uso di tecniche assai complicate. Per questo scopo si trae partito dal fatto che le proprietà degli isotopi sono estremamente simili ma non esattamente identiche. Ora che si posseggono isotopi separati allo stato puro, si può constatare che esistono lievi differenze nei punti di fusione, tensioni di vapore, coefficienti di diffusione, e costanti di equilibrio delle reazioni chimiche. Tali differenze raramente superano qualche unità per mille, quindi la separazione effettuata usando tali differenze è trascurabile a meno che non si tratti di processi ripetuti un grandissimo numero di volte in modo da moltiplicare il piccolissimo grado di separazione raggiunto in ciascun ciclo. E' appunto per ripetizione di processi di diffusione e di reazioni chimiche che è stato possibile separare isotopi in quantità macroscopiche. Tra gli isotopi stabili così separati citiamo per la loro importanza il carbonio 13, l'azoto 15 e l'ossigeno 18, tutti presenti in piccola percentuale nella miscela ordinaria di ciascuno di questi elementi.

COSTITUZIONE DEL NUCLEO

Il fatto che ciascun nucleo ha massa circa multipla di una unità costante, suggerisce immediatamente l'ipotesi che tutti i nuclei siano costituiti di particelle elementari di massa uguale a una unità di peso atomico. Infatti la disintegrazione e sintesi artificiale dei nuclei effettuate negli ultimi anni hanno mostrato che tutti i nuclei si compongono di due specie di particelle, *neutroni* e *protoni*. Il protone è il nucleo dell'ordinario isotopo dell'idrogeno; esso ha carica $+1$ e massa 1. Il neutrone è una particella priva di carica elettrica, e avente massa circa uguale a quella del protone. E' chiaro che un nucleo di massa A deve contenere in tutto A protoni e neutroni; se la carica del nucleo è Z , esso deve contenere Z protoni; quindi le rimanenti $A-Z$ particelle costituenti sono neutroni. Per es. il Na_{11}^{23} si compone di 11 protoni e 12 neutroni.

Gli isotopi di un elemento sono nuclei contenenti lo stesso numero di protoni ma differenti per il numero di neutroni.

Si chiamano *isobari* nuclei contenenti lo stesso numero totale di particelle, ma differenti per la percentuale di protoni e di neutroni.

RADIOATTIVITÀ BETA

Gli isotopi esistenti in natura non contengono una percentuale arbitraria di protoni e di neutroni. Si sa che il peso atomico è circa dop-

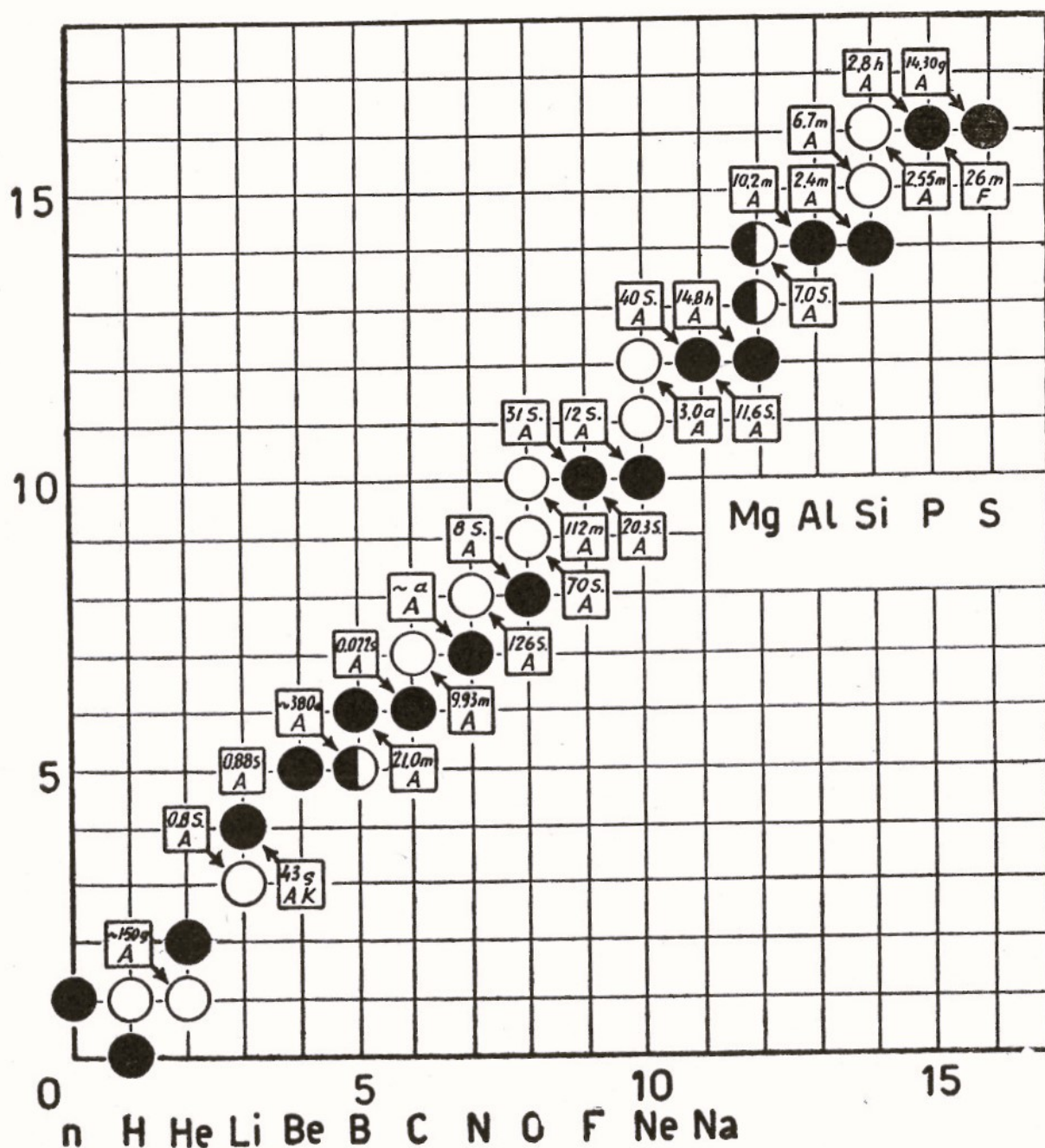
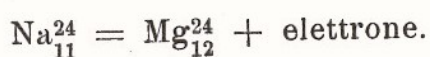


FIG. 1.

pio del numero atomico per elementi leggeri, e alquanto più che doppio per elementi pesanti; in altre parole nei nuclei leggeri ci sono circa tanti neutroni quanti protoni, nei nuclei pesanti un leggero eccesso di neutroni.

Uno si può domandare perchè non ci sono nuclei con numeri di protoni e neutroni diversi da quelli trovati in natura. La risposta è che qualsiasi nucleo che non esiste in natura è instabile. Nel 1934 Curie e Joliot hanno per primi sintetizzato dei nuclei contenenti meno neutroni degli isotopi normali degli stessi elementi; mentre nello stesso anno Fermi sintetizzava nuclei contenenti un eccesso di neutroni. In ambo i casi tali nuclei hanno manifestato il fenomeno della *radioattività beta*.

Per descrivere questo fenomeno, è conveniente rappresentare i nuclei in un diagramma (diagramma protoni-neutroni: figura 1). In ascissa è rappresentato il numero di protoni o numero atomico Z , in ordinata il numero di neutroni $N = A - Z$. Ogni nodo del reticolato rappresenta la composizione di un possibile nucleo. I cerchi neri rappresentano i nuclei esistenti in natura, cioè stabili. Tutte le altre posizioni rappresentano nuclei instabili; quelli indicati da quadrati sono stati sintetizzati. I nuclei al disopra della striscia occupata dai nuclei stabili (cioè contenenti un eccesso di neutroni; nuclei di Fermi) si trasformano emettendo una *particella beta* o elettrone (negativo). Tale emissione si accompagna alla trasformazione di un neutrone in un protone. Si vede immediatamente che questo processo trasporta il nucleo in una posizione immediatamente a destra e in basso della posizione iniziale, cioè lo trasforma in un suo isobaro di numero atomico superiore di un'unità. Per esempio l'isotopo di Fermi Na_{11}^{24} subisce la trasformazione beta:



Similmente gli elementi di Curie-Joliot si trasformano per emissione di un positrone (elettrone positivo) in un isobaro di numero atomico inferiore di un'unità.

Questi isotopi instabili per radioattività beta possono esser prodotti mediante svariate reazioni nucleari, per esempio gli isotopi di Fermi aggiungendo un neutrone al nucleo. Il neutrone libero può essere ottenuto bombardando elementi leggeri con ioni di idrogeno accelerati artificialmente, o in quantità enormemente maggiore nella pila nucleare.

TRASFORMAZIONI RADIOATTIVE IN FUNZIONE DEL TEMPO

Le trasformazioni radioattive (beta o altre) si svolgono nel tempo secondo una legge semplicissima: la quantità di sostanza esistente si riduce nello stesso rapporto in tempi successivi uguali. Si assegna in generale, per un dato isotopo radioattivo, il periodo o tempo di dimezzamento T , nel quale il numero di atomi non trasformati si riduce a metà (l'altra metà essendosi cambiata nel prodotto finale). Dopo un altro tempo uguale, resta una metà della metà precedente, e così di seguito.

Si conoscono periodi di dimezzamento compresi tra frazioni di secondo e miliardi di anni. Per esempio, il sodio 24 già menzionato ha un tempo di dimezzamento di 15 ore. Dopo 15 ore ne resta la metà, dopo 30 ore $1/4$, dopo 45 ore $1/8$, dopo 60 ore $1/16$ e così via. Per le applicazioni degli isotopi radioattivi come indicatori è utile che il tempo di dimezzamento non sia troppo breve, altrimenti la sostanza sparisce prima che l'esperienza sia compiuta. In ogni caso, è necessario tener conto del decadimento della sostanza per l'interpretazione quantitativa delle misure.

MISURA DELLA RADIOATTIVITÀ

Il numero di atomi esistenti di un dato isotopo radioattivo è proporzionale al numero di atomi che si disintegrano in un tempo determinato (per esempio in un minuto). Poichè ogni atomo che si disintegra emette una particella beta (elettrone o positrone), se riusciamo a contare il numero di particelle beta emesse per minuto avremo un numero proporzionale al numero di atomi del radioelemento esistenti in quel momento. Esattamente si trova:

$$\text{numero di disintegrazioni per minuto} = \frac{\text{numero di atomi presenti}}{\text{tempo di dimezzamento}} \times 0,693$$

dove il tempo di dimezzamento è pure espresso in minuti.

In molti casi non interessa conoscere il numero assoluto di atomi radioattivi esistenti, ma soltanto una grandezza ad esso proporzionale. Per questo non occorre misurare tutte le particelle beta emesse ma soltanto contarne una frazione costante, per esempio quelle emesse entro un dato cono (naturalmente le particelle beta sono emesse in tutte le direzioni uniformemente).

Per contare gli elettroni emessi, ci si serve generalmente del *contatore di Geiger e Müller*. Questo è un tubo riempito di miscela gassosa (argon e vapore d'alcool etilico) a pressione ridotta e munito di due elettrodi, uno cilindrico e l'altro in forma di filo metallico sottile teso sull'asse del cilindro. Se si applica tra gli elettrodi una tensione conveniente, ogni elettrone o altra particella carica di elettricità, e quindi capace di ionizzare i gas, che attraversi il tubo produce una scarica. Questa è facilmente amplificata mediante circuiti elettronici e fa funzionare un numeratore meccanico. L'efficienza dello strumento è praticamente del 100 per cento. Il tubo contatore possiede una finestra sottile (di mica o altro materiale adatto) per far entrare elettroni di poca energia quando si voglia misurare una sostanza che emette elettroni molli.

ASSORBIMENTO DEI RAGGI BETA

Nelle misure della quantità di un isotopo radioattivo ha grande importanza tener conto dell'assorbimento degli elettroni emessi. In generale non si contano tutti gli elettroni emessi, ma soltanto quelli contenuti in un dato cono o limitati da altri fattori geometrici. Si può anche fare a meno di valutare l'effetto di questi fattori geometrici quando, come in generale è il caso, occorra misurare soltanto intensità relative di diversi preparati radioattivi. S'intende che i fattori geometrici debbono essere identici in tutta la serie delle misure da confrontare, quindi i vari preparati dovranno esser disposti in posizione identica rispetto al contatore.

Gli effetti di assorbimento possono falsare le misure ove si trascurino gli accorgimenti opportuni. Un fascio di elettroni, attraversando la materia, resta più o meno indebolito perchè alcuni degli elettroni spendono tutta la loro energia nell'ionizzare gli atomi che incontrano, e infine rimangono nell'assorbitore confondendosi con la massa anonima degli elettroni della sostanza stessa.

Altri elettroni sono deviati fuori del fascio per urto contro nuclei di atomi. Un certo spessore di materia tra una sorgente solida o liquida di elettroni e il gas nel contatore è inevitabile: tra l'altro lo spessore del preparato radioattivo stesso che gli elettroni debbono attraversare prima di uscire, e la parete del contatore. Questo assorbimento non ha importanza nel caso di misure relative, purchè le condizioni dell'esperienza siano tali da dare effetti di assorbimento identici in tutte le misure; e naturalmente purchè l'assorbimento non sia tale da eliminare addirittura tutti o quasi tutti gli elettroni da misurare. Gli spessori ammissibili variano grandemente a seconda dell'energia degli elettroni emessi dal particolare isotopo radioattivo in questione; naturalmente più grande è l'energia degli elettroni e più grande è lo spessore di materia che essi sono capaci di attraversare. E' ovvio che conviene servirsi di radioelementi a elettroni di grande energia quando questo sia possibile. Per esempio, elettroni di energie corrispondenti a qualche milione di volt, come sono emessi da molti radioelementi artificiali (per es. il fosforo 32) possono attraversare spessori di materia equivalenti a un millimetro di acqua senza che l'intensità sia ridotta a meno del 50 per cento. In altri casi, per esempio per il carbonio 14, di ovvio interesse nelle applicazioni biologiche, gli elettroni emessi hanno così poca energia (corrispondente a qualche decina di migliaia di volt) da essere capaci di attraversare soltanto strati sottilissimi di materia solida. In tal caso occorre talvolta ridurre il carbonio radioattivo da misurare alla forma gassosa come CO_2 e introdurlo addirittura nel gas del contatore. Si capisce che questa

tecnica sia molto più complicata perchè non ci si può servire di un contatore chiuso una volta per tutte come nei casi ordinari.

USO DEGLI INDICATORI

Lo scopo dell'uso degli isotopi radioattivi come indicatori è quello di seguire la sorte di certi determinati atomi di un elemento in trasformazioni chimiche e biologiche. Gli atomi radioattivi costituiscono un modo di *segnare*, per così dire, gli atomi da seguire, i quali in grandissima maggioranza non sono della varietà radioattiva.

Si capisce che perchè il metodo sia valido occorre che gli atomi radioattivi, i soli identificabili, rappresentino fedelmente il comportamento degli atomi stabili introdotti simultaneamente. Consideriamo anzitutto fattori statistici. Supponiamo, per fare un caso numerico, che si adoperi in una ricerca su un soggetto biologico un milligrammo di fosforo, segnato con fosforo radioattivo dell'intensità totale di un microcurie. Il milligrammo di fosforo contiene $2 \cdot 10^{19}$ atomi; mentre un microcurie di un radioelemento con periodo di 14 giorni contiene $6,5 \cdot 10^{10}$ atomi; cioè c'è poco più di un atomo dell'isotopo radioattivo per miliardo di atomi stabili. Supponendo che tra i due isotopi, stabile e radioattivo, nessuno abbia avuto preferenza nelle trasformazioni chimiche o biologiche in questione, un campione rappresentante $1/100$ della sostanza, prelevato da questa, dovrebbe contenere in media $6,5 \cdot 10^8$ atomi radioattivi.

Naturalmente un campione effettivo non ne conterrà esattamente questo numero; ma si sa che le fluttuazioni statistiche sono dell'ordine di grandezza della radice quadrata del numero di oggetti nel campione, nel caso presente dell'ordine di $2,5 \cdot 10^4$. La fluttuazione statistica probabile rappresenta dunque un errore trascurabile (di una parte su 40.000). Ciò vale in tutti i casi pratici nell'uso degli indicatori radioattivi.

E' meno facile convincersi di un secondo punto essenziale, che gli atomi radioattivi e quelli stabili che li accompagnano si comportino ugualmente nei processi chimici e biologici in questione, in modo che la concentrazione degli atomi radioattivi direttamente misurata sia un indice esatto della concentrazione degli atomi inattivi. Su questo punto soltanto dati sperimentali possono darci una conferma o meno dell'ipotesi. Per fortuna esistono numerosissimi studi sul comportamento dei differenti isotopi di un elemento, e tutti concordano nell'affermare che processi chimici non discriminano i vari isotopi di un elemento, o implicano differenze minime, in generale inferiori al limite di precisione raggiungibile nelle misure degli indicatori radioattivi. Infatti, se così non fosse, non sarebbe estremamente difficile separare gli isotopi. Per esempio, misurando la concentrazione relativa dei due isotopi stabili del car-

onio 12 e 13 nell'anidride carbonica dell'atmosfera, e in seguito nel carbonio di composti sintetizzati da piante vissute nella stessa atmosfera, si sono messe in evidenza piccolissime variazioni, inferiori all'uno per cento, indicanti che in realtà la pianta manifesta una leggerissima discriminazione per un isotopo piuttosto che per un altro. Ma in tutti i casi conosciuti le differenze sono trascurabili, eccetto per l'idrogeno e il deuterio, dove una differenza di massa nel rapporto uno a due dà luogo a differenze relativamente cospicue nel comportamento chimico e biologico.

Potrebbe qui sorgere l'obiezione che tale risultato, dimostrato per gl'isotopi stabili, potesse non essere valido per gl'isotopi radioattivi. A parte il fatto che il comportamento praticamente identico di isotopi dello stesso elemento nei processi chimici è stato verificato direttamente anche per isotopi radioattivi, ragioni teoriche dimostrano in modo estremamente convincente che non vi possono essere differenze a questo riguardo tra isotopi stabili e radioattivi. Le piccole differenze che gli isotopi di un elemento manifestano, in quei processi chimici e fisici che possono condurre a una loro separazione parziale, dipendono in gran parte dalla differenza di massa, e questo fattore è indipendente dalla radioattività o stabilità dell'isotopo in questione. Un atomo di un isotopo radioattivo non si distingue in nulla esternamente da un atomo stabile che avesse la stessa massa. E' vero che il primo si può disintegrare e il secondo no, ma questa è per così dire una caratteristica in potenza di cui ci si accorge soltanto *a posteriori* dopo che il nucleo si è trasformato. Allora esso diviene un nucleo di un elemento diverso e non fa più parte dell'indicatore radioattivo. Gli atomi dell'isotopo radioattivo che vengono usati nelle esperienze con gl'indicatori sono quelli che sopravvivono durante il tempo che passano nel soggetto biologico, e manifestano la loro radioattività disintegrandosi soltanto dopo che la sostanza è stata estratta e portata sullo strumento di misura. Quindi l'organismo in cui sono stati introdotti non aveva alcun modo, per così dire, di accorgersi che quegli atomi erano radioattivi. Quanto agli altri atomi, che si disintegrano nel soggetto biologico durante l'esperienza e vanno quindi perduti, bisogna soltanto occuparsi che non siano in quantità tale da disturbare con le loro radiazioni i processi vitali che si desidera studiare. Il limite ammissibile della concentrazione di sostanze radioattive dipende naturalmente in larga misura dal soggetto in uso e dal particolare problema; ma si può dire che in quasi tutte le circostanze pratiche si può convenientemente operare con concentrazioni di indicatori radioattivi ben inferiori alla dose necessaria per influenzare apprezzabilmente il soggetto.

Sebbene le applicazioni chimiche e biologiche degli indicatori saranno trattate estesamente in altre conferenze di questa serie, vogliamo brevemente menzionare il tipo generale di problemi che possono essere risolti

mediante gl'indicatori e che sono inaccessibili ad altri metodi di ricerca. Si tratta in ogni caso di determinare se ha luogo o meno scambio di atomi dello stesso elemento tra sostanze portate a contatto in fase gassosa, liquida o solida. Per esempio, se si mescola dell'alcool etilico con acqua, avviene scambio di atomi di ossigeno tra le molecole d'alcool e quelle di acqua? Prima dell'applicazione degli isotopi, era possibile dare una risposta plausibile a domande del genere, fondata sul comportamento in casi analoghi di elementi differenti e quindi identificabili. Per esempio se si trova che mescolando cloruro di metile e bromuro di etile non si formano cloruro di etile e bromuro di metile, si può dedurre la conclusione abbastanza plausibile che nella miscela di cloruro di metile e cloruro di etile (o anche in una sola di queste sostanze) non si ha scambio di atomi di cloro tra una molecola e l'altra. Ma è anche chiaro che questa estrapolazione da un elemento a un altro può indurre in errore, e che nei fenomeni biologici è addirittura impossibile dedurre il comportamento di un elemento da quello di un altro; per esempio sarebbe assurdo trarre conseguenze sul metabolismo del carbonio in un organismo sostituendolo col silicio. L'unico metodo diretto e inoppugnabile per decidere se esiste scambio di atomi dello stesso elemento tra molecole è l'uso di isotopi. Per esempio, nel caso sopra citato dell'alcool e dell'acqua, si potrebbero mescolare acqua ordinaria e alcool formato con ossigeno 18 (invece dell'ordinario ossigeno 16). Se poi, separando di nuovo le due sostanze, si trovassero alcool con ossigeno 16 e acqua con ossigeno 18, vorrebbe dire che c'è stato scambio, e si potrebbe misurarne la frequenza. In questo caso l'esperienza sarebbe stata eseguita con un isotopo stabile e si richiederebbe l'uso di uno spettrografo di massa per determinare la composizione isotopica delle sostanze; oppure una misura del peso molecolare potrebbe bastare se non si richiedesse grande precisione. Questo dell'ossigeno che abbiamo citato è uno dei pochi casi in cui non si possiede un isotopo radioattivo di periodo abbastanza lungo e quindi occorre usare un isotopo stabile come indicatore.

Si comprende immediatamente l'immenso campo di applicazione di questo metodo alla chimica degli organismi viventi. Il metabolismo di qualsiasi elemento presenta problemi importanti, ma si capisce che lo sforzo dei biochimici si concentri specialmente su alcuni elementi che prendono parte ai processi fondamentali della materia vivente, quali la fotosintesi dei carboidrati nelle piante a partire dall'anidride carbonica e la sintesi degli aminoacidi e delle proteine. Una discussione anche superficiale di queste applicazioni uscirebbe dai limiti che ci siamo proposti.
