



Marco Taddia

Gruppo Nazionale di Fondamenti e Storia della Chimica
marco.taddia@unibo.it

L'AUTENTICA STORIA DEL REATTIVO DI FEHLING

Il reattivo di Fehling, in passato detto anche 'liquore', è tuttora il mezzo più comune per la determinazione degli zuccheri riducenti negli alimenti e, tra l'altro, il suo impiego è previsto nei metodi ufficiali italiani per l'analisi di vini e mosti. In passato è stato utilizzato anche nel monitoraggio glicemico del diabete. Ha assunto il nome di colui che nel 1848 perfezionò la procedura ma la storia ci rivela anche altro.



Contenitori per le soluzioni di Fehling I e II (1904)
(Zucker-Museum Berlin - Orig. Institut für Zuckerindustrie)

La storia della chimica è materia d'interesse non solo per i chimici ma anche per gli umanisti, ai quali offre numerosi motivi d'indagine per quanto riguarda la genesi delle teorie scientifiche nei rispettivi contesti culturali. Ci sono tuttavia delle eccezioni e, tra i campi esplorati prevalentemente dai chimici, vi è lo sviluppo dei reagenti impiegati nell'analisi quali-quantitativa, essenzialmente per due motivi. Il primo risiede nel carattere 'tecnico' dell'argomento, distante dagli interessi degli umanisti, mentre il secondo è collegato forse al tempo e all'energia spesa dai chimici sui banchi di laboratorio a 'interrogare' la materia mediante l'uso di tali reagenti.

Quello detto di Fehling (<https://www.chimicamo.org/chimica-analitica/zuccheri-riducenti-determinazione/>), impiegato per la determinazione degli zuccheri riducenti in svariati ambiti, ha una storia piuttosto interessante che, rivissuta, fa emergere i nomi di un gruppo di scienziati, alcuni scarsamente noti, il cui contributo allo sviluppo del reattivo è forse più significativo del titolare 'ufficiale' dell'invenzione. La letteratura sull'argomento è piuttosto vasta e, come d'uso, verrà citata mano a mano che sarà necessario ma preme innanzitutto ricordare un contributo che, benché datato, presenta la storia del reagente di Fehling in maniera egregia [1], cui se ne sono aggiunti altri, più recenti, in prevalenza a scopo didattico [2].



Fig. 1 - Vaso da farmacia per l'unguento egiziano (Musée des Hospices Civils de Lyon)

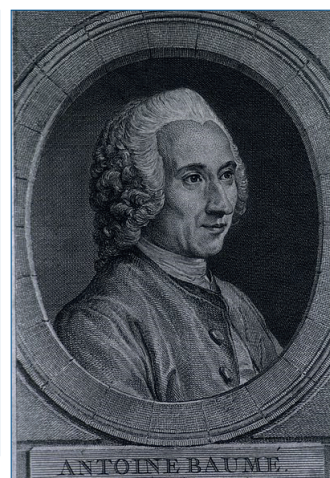
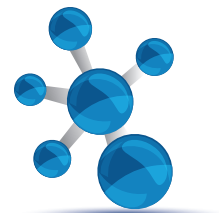


Fig. 2 - Antoine Baumé (1728-1804)

Lavoro presentato al Convegno IUPAC | CCCE 2021 - 104th Canadian Chemistry Conference and Exhibition.



Cominciamo la nostra storia, andando indietro nel tempo e ricordando che gli antichi egizi erano maestri sopraffini non solo nell'arte cosmetica e della profumeria ma anche in quella medica, che si avvaleva di preparati e unguenti di vario genere. Di alcuni di essi si perpetuò a lungo la fama, ben oltre il tramonto della civiltà egizia. Quando la chimica, alla fine del secolo XVIII emerse come scienza autonoma, i francesi presero ad interessarsi anche di taluni di questi unguenti, come ad esempio l'*Onguent aegyptiac* (Fig. 1), per carpirne i segreti. Era composto per 1/3 di miele bianco, 1/3 di aceto molto forte e 1/3 di idrossicarbonato di rame in polvere (*verd-de-gris*) e se ne occupò Antoine Baumé (Senlis 1728 - Parigi 1804) (Fig. 2) nel suo *Eléments de pharmacie théorique et pratique* (1773) [3]. Presentandolo come idoneo alla funzione di detergente e ad altri scopi medicamentosi, come il trattamento delle ferite, precisava che per tale preparato il nome di 'unguento' era improprio dato che non conteneva olio o grasso. Illustrandone il processo di preparazione, Baumé scriveva che l'aceto e il miele portavano in soluzione il minerale di rame impartendo progressivamente alla miscela un colore rossastro, simile alla ruggine di ferro. L'Autore lo attribuiva alla rigenerazione del rame metallico dalla sua 'calce', senza procedere a fusione, grazie all'intermediazione del flogisto dell'aceto e del miele. Continuando la discussione, egli precisava che l'unguento egizio lasciava precipitare la polvere rossa dopo poco tempo e che essa conservava tale colore a lungo poi, piano piano, cambiava e nel giro di dieci anni diventava nera. L'articolo riporta altri particolari operativi ma ciò che importa in questo contesto è l'attribuzione della colorazione rossastra, sviluppata dalla reazione fra un sale rameico e una sostanza zuccherina, alla produzione di rame elementare mentre sappiamo bene che così non è. Ci vorranno più di quarant'anni per avere la corretta interpretazione dell'identità del precipitato rosso formato a seguito della reazione.

Il chimico tedesco Heinrich August Vogel (Westerhof, 1778 - München, 1867) (Fig. 3), formatosi a Parigi, poi insegnante presso il Liceo Napoleone dal 1802 al 1815, infine professore



Fig. 3 - Heinrich August Vogel (1778-1867) (University of Oklahoma Libraries History of Science Collections)

re di chimica a Monaco sulla cattedra che era stata di Adolph Ferdinand Gehlen, condusse una serie di esperimenti inerenti la '*force décomposante du principe sucré*' su alcuni sali metallici e loro ossidi, pubblicando i risultati sul *Journal de Pharmacie* nel 1815 [4]. Per quanto riguarda i sali rame esaminò: l'acetato, il solfato, il nitrato e il cloruro. Nel caso dell'acetato ottenne una polvere rossa che, dopo vari saggi, ritenne trattarsi di protossido di rame (*oxide au minimum*) molto puro. Con il solfato, ottenne una polvere rossa di aspetto metallico, diversa dalla precedente, che ritenne rame metallico finemente suddiviso. Con il nitrato non si formò alcun precipitato, così pure, durante l'ebollizione della miscela di reazione, con il cloruro. In tal caso, in seguito a raffreddamento, osservò il depositarsi di una polvere bianca cristallina. Nelle conclusioni, che si sviluppano dettagliatamente in dodici punti e riguardano anche sali di mercurio, argento e piombo, Vogel riferiva che responsabile della decomposizione era lo zucchero (si presuppone il saccarosio) ma che pure lo zucchero di latte, il miele, la manna e altri tipi di zucchero condividevano con il primo, almeno 'fino a un certo punto' tale proprietà. Impiegando la gomma arabica, la gelatina, il grasso e la cera al posto dello zucchero non si verificava alcuna reazione. Vogel interpretò quindi correttamente, almeno per l'acetato, l'identità del prodotto di reazione e fu il primo a riuscirci. Con lui ci avviciniamo al periodo storico più interessante per la presente ricerca, ossia gli anni '40-'50 del secolo XIX, che videro un fiorire di studi e ricerche sull'argomento. Prima, però, vale la pena di citare i principali

campi applicativi nei quali ci si aspettava di ottenere vantaggi da un reagente per gli zuccheri che, in precedenza, interessava soprattutto per studiarne le proprietà chimiche. In primo luogo intendeva avvalersene a scopo analitico l'industria saccarifera e alimentare in genere, poi la chimica clinica per il controllo della malattia diabetica, tramite il monitoraggio degli zuccheri riducenti nelle urine e nel sangue https://www.soc.chim.it/sites/default/files/chimind/pdf/2022_3_5353_on.pdf. Ma quale era lo stato dell'arte analitica alle soglie del periodo consi-

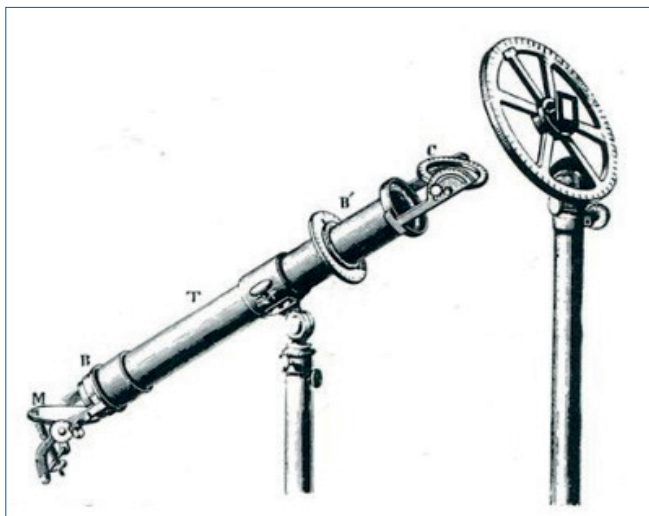


Fig. 4 - Saccarimetro/polarimetro disegnato da Biot (https://drc.libraries.uc.edu/bitstream/handle/2374.UC/733811/01_polarimeters_web.pdf?sequence=1)

derato? Era ben noto che gli zuccheri posti a contatto con un fermento venivano decomposti con produzione di anidride carbonica e alcool [5] e questo aveva portato allo sviluppo di appositi strumenti di misurazione, cui fece seguito l'evoluzione più importante per opera di Jean-Baptiste Biot (1774-1862). Nel corso del 1835, grazie a lui si rese disponibile la saccarimetria mediante luce polarizzata come strumento analitico degli zuccheri [6] (Fig. 4) seguita, nel 1840, dalla sua applicazione in campo medico e industriale [7]. Per dovere di cronaca si ricorda che il fenomeno della rotazione del piano della luce polarizzata era stato descritto da François Arago nel 1811 e che Biot pare abbia 'usurato' la scoperta (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22086755/>). Intanto le ricerche sulla reazione tra zucchero e sali di rame destavano l'interesse di ricercatori di aree diverse. Nell'agosto 1837 il geologo e chimico Louis Hunton (1814-1838),

pioniere britannico della biostratigrafia delle ammoniti, pubblicò sul *Phil. Mag.* [8] un lavoro intitolato 'On the definite Combination of Sugar with the Alkalis and Metallic Oxides'. Questo contributo, alquanto trascurato in letteratura, precedette di circa tre anni quello del chimico tedesco Eilhard Mitscherlich (Neuende, 1794 - Berlino, 1863) pubblicato nel 1840 negli *Annalen der Physik* in cui descriveva, tra

l'altro, la preparazione dell'ossido rameoso a partire da zucchero e solfato rameico, dopo aver precipitato l'idrossido con alcali [9]. Si ricorda che Mitscherlich è noto soprattutto per aver formulato nel 1819 la legge dell'isomorfismo. Le sue ricerche sugli zuccheri proseguirono grazie all'allievo Karl August Trommer (Zeitz, 1806 - Berlino, 1879), chimico agrario e stimato veterinario (http://www.chemieforum-erkner.de/chemie-geschichte/personen/trommer_c_a.htm). Dal 1843 al 1850 insegnò scienze naturali presso l'Accademia di Agraria di Möglin e nel 1850 passò all'Accademia di Agricoltura di Eldena vicino a Greifswald, dove insegnò chimica, fisica, tecnologia, scienze del suolo e mineralogia. Conseguita poi l'abilitazione in chimica tecnica e tecnologia chimica a Greifswald, divenne professore nel 1854. A Trommer si attribuisce il primo metodo per determinare gli zuccheri riduttori mediante reazione con sali rameici. Lo pubblicò negli *Annalen* nel 1841 con il titolo 'Distinzione tra gomme, destrina, zucchero d'uva e zucchero di canna' (Fig. 5) [10].

A questo punto corre l'obbligo di segnalare un evento importante che, in terra di Francia, diede un ulteriore impulso alle ricerche sui metodi di analisi degli zuccheri. Avvenne infatti che, con l'intento di promuovere l'industria saccarifera, la *Société d'encouragement pour l'industrie nationale* indicasse nel 1838 un concorso per sviluppare un metodo pratico e affidabile per determinare il contenuto di zucchero nelle barbabietole e in altri prodotti. In gioco c'erano 3.000 franchi. Si presentarono diversi concorrenti ma nessuno fu ritenuto meritevole del premio. La scadenza del bando fu prorogata al 1843 e allora un terzo del premio fu assegnato al chimico francese Louis Barreswil (1812-1870) [11]. Egli aveva proposto un metodo che impiegava un reagente costituito

da tartrato di potassio, solfato di rame, carbonato di sodio e idrossido di sodio [12a, 12b]. L'innovazione rispetto al reagente di Trommer consisteva nell'uso del tartrato per impedire la precipitazione del rame in ambiente alcalino. In realtà il giovane Barreswil, come scrisse Eugène Péligot nella sua relazione alla *Société d'encouragement*, non fece altro che rendere più pratico e convertibile in titolazione volume-

360

Unterscheidung von Gummi, Dextrin, Traubenzucker und Rohrzucker.

Nach einer Mittheilung von Hrn. Mitscherlich an die Academie der Wissenschaften zu Berlin hat Hr. Trommer Versuche angestellt, um Gummi, Dextrin, Traubenzucker und Rohrzucker von einander zu unterscheiden und besonders den Traubenzucker in sehr geringer Menge zu entdecken. Hr. Trommer versetzt die Auflösung dieser Substanzen mit einer Kalialösung und setzt dann eine verdünnte Auflösung von schwefelsaurem Kupferoxyd hinzu. Die Gummialösung giebt einen blauen Niederschlag, welcher in alkalischem Wasser unlöslich, in reinem Wasser

Fig. 5 - L'articolo di K. Trommer (1841)

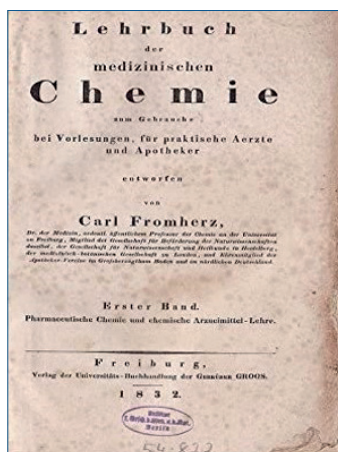


Fig. 6 - K. Frommherz, Lehrbuch der medizinischen chemie, 1832 (<https://www.abebooks.com>)

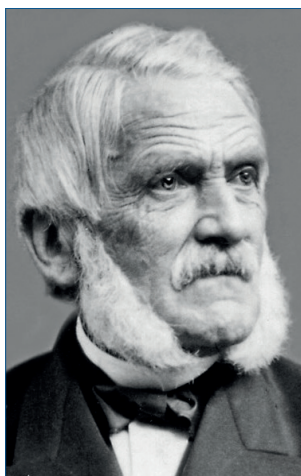


Fig. 7 - Hermann von Fehling (1812-1885)

trica il procedimento che aveva messo a punto Karl Frommherz (Costanza, 1797 - Friburgo, 1854), chimico, medico, mineralogista e professore a Friburgo, autore del testo *'Lehrbuch der medizinischen chemie'* (Fig. 6), in cui si era occupato anche del diabete mellito e di quello 'insipido' [13]. Il suo reagente a base di tartrato rameico, conosciuto in letteratura (specie francese) come 'reattivo di Frommherz', godette per molti anni di popolarità su enciclopedie e trattati poi, tranne qualche eccezione [14], fu dimenticato dopo la pubblicazione delle modifiche di Barreswil.

Resta comunque il fatto che la priorità del procedimento spetta a Frommherz, come testimonia anche il trattato di Dumas, pubblicato nel 1843. Ecco ciò che scrive Dumas: *'Il signor Frommherz ha riconosciuto che si può distinguere molto facilmente lo zucchero di canna dal glucosio, basandosi sulla tendenza che quest'ultimo possiede a catturare l'ossigeno. Pertanto, quando si scioglie il tartrato di rame in una soluzione di potassa riscaldata a 100 °C, se si aggiunge zucchero di canna non si verificano cambiamenti, ma la minima traccia di zucchero d'uva produce un deposito giallo di protossido di rame idratato, che presto si trasforma in una polvere rossa di protossido di rame anidro'. 'Il Sig. Barreswil ha dato a questo processo una forma molto pratica eseguendo il saggio con liquidi titolati'* [15].

Ormai il quadro era chiaro e così Hermann von Fehling (1812-1885) (Fig. 7) ebbe la strada spianata per proporre nel 1848, 1849 e 1850 una triade di lavori dove la procedura veniva ulteriormente migliorata, definita e resa ancor più adatta all'analisi volumetrica. Fehling ci riuscì, anche perché le sue competenze in campo chimico erano vaste e approfondite [16].

Aveva lavorato nel laboratorio di Gmelin (Heidelberg) e di Liebig (Giessen). Fu lo stesso Justus von Liebig (1803-1873) a sostenerne la candidatura alla cattedra di Chimica del Politecnico di Stoccarda, dove rimase per quarant'anni. Compì ricerche sull'ammoniaca e sui complessi di questa con il palladio. Per un lungo periodo si occupò di chimica organica. Scrisse una monografia sull'acido succinico e scoprì il benzonitrile (1844), prototipo di una classe di nuovi composti organici. Più tardi si dedicò a lavori applicativi e per la tutela della salute pubblica. A queste attività affiancò altre di carattere editoriale: libri, riviste e la traduzione in tedesco di opere straniere. Nel 1848 il lavoro sulla determinazione del glucosio comparve sulla rivista *Archiv für physiologische Heilkunde* con il titolo 'Determinazione quantitativa dello zucchero nelle urine' [17] (Fig. 8), mentre nel 1849 [18] e nel 1858 [19] li destinò agli *Annalen der Chemie und Pharmacie*. Quello del 1849 è intitolato "La determinazione quantitativa di zucchero e amido per mezzo del vetriolo di rame" [18].

L'esordio è chiarificatore: *'Dopo ripetute analisi di urine diabetiche, più di due anni fa mi vedevo obbligato a fare esperimenti sull'analisi quantitativa degli zuccheri nell'urina. Dato che non disponevo di un polarimetro adatto, ho usato una soluzione di solfato di rame basica seguendo la proposta di Barreswil. Dato che non esistono informazioni dettagliate sul procedimento di Barreswil, io stesso ho fatto prove ripetute con queste soluzioni variando la composizione; le prove hanno mostrato che questo saggio è perfettamente adatto al suo fine quando la soluzione rameica non si degrada durante l'ebollizione. Allora ho pubblicato il procedimento che ho seguito durante le analisi dell'urina (Roser's und Wunderlich's Archiv für physiologische Heilkunde 1848 pag. 64), e ho detto di avere usato questo*

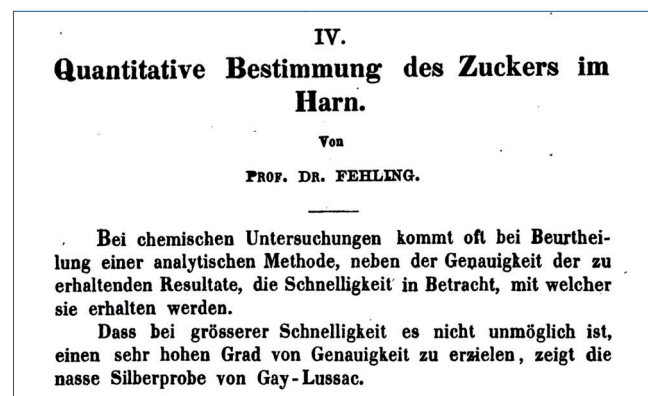


Fig. 8 - L'articolo di H. Fehling (1848)

metodo anche per la determinazione degli zuccheri nella barbabietola e nell'amido di patate e dei cereali; nel frattempo ho usato questo saggio ripetutamente... e mi sono convinto che il metodo è ottimale ai fini tecnici, perché si arriva velocemente ad un risultato che è tanto vicino alla realtà quanto serve'. Nel lavoro è descritta la preparazione della soluzione di solfato di rame, addizionata di tartrato di potassio e idrossido di sodio, specificando le condizioni per la sua stabilità nel tempo. Viene poi spiegato come determinare, mediante il ricorso a soluzioni standard, il fattore di conversione zucchero/rame per stabilire quanto di quest'ultimo veniva ridotto ad ossido rameoso da una quantità nota di zucchero. L'ossido rameoso prodotto era separato, ossidato a rameico con acido nitrico e infine pesato. La procedura analitica impiegata sui campioni prevedeva l'aggiunta della soluzione di glucosio a concentrazione incognita alla soluzione di rame fino a quando quest'ultima non si scoloriva totalmente. L'A. ne verificava l'accuratezza confrontando i risultati con quelli ottenuti mediante fermentazione e prestando attenzione all'effetto di alcune interferenze. Era un punto importante perché, specialmente in campo clinico, le matrici erano chimicamente complesse. Applicò il suo metodo anche al saccarosio dopo inversione e all'amido dopo idrolisi. Successivamente, il metodo di Fehling è stato ulteriormente modificato da altri Autori. La soluzione reagente venne divisa in due per agevolarne la conservazione, la procedura volumetrica risalente a Barreswil migliorata e facilitata dall'impiego di blu di metilene come indicatore (<http://www.starch.dk/isi/methods/27de.htm>).

Conclusioni

A conclusione di questo articolo preme sottolineare che il contributo di Fehling alla messa a punto di un metodo di analisi per determinazione degli zuccheri riducenti si distingue non per l'originalità ma per la cura posta nel garantirne l'affidabilità. In sostanza si trattò di un approccio più moderno rispetto ai predecessori, prossimo a quello che oggi costituisce la routine della ricerca in campo chimico-analitico. La cura e la precisione nella descrizione dei reattivi, l'esposizione dettagliata del procedimento, lo sforzo di verificare l'accuratezza mediante il confronto con metodi noti e l'attenzione alle eventuali interferenze costituiscono i pregi del contributo di Fehling. Ciò spiega, forse, perché il reattivo e il saggio restano per sempre legati al suo nome benché, come si è visto, ciò non renda giustizia ai co-inventori del

reattivo e del metodo di analisi, frutto di perfezionamenti successivi. Non si tratta certamente di un caso isolato nella storia della chimica e delle scienze in generale, anzi si potrebbe dire che, considerato il processo dinamico di accumulo delle conoscenze, sia quasi la regola. Occorre guardarsi allora dall'attribuire un'invenzione o una scoperta importante a un singolo individuo perché può rivelarsi una semplificazione storica di comodo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] B. Herstein, *J. Am. Chem. Soc.*, 1910, **32**(6), 779.
- [2] P.M. Boll, *J. Chem. Ed.*, 1994, **71**(3), 220.
- [3] Baumé, *Éléments de pharmacie théorique et pratique*, Samson, Paris, 1773, p. 782.
- [4] A. Vogel, *Journal de Pharmacie*, 1815, **1**(6), 16.
- [5] L.J. Thenard, *Traité de Chimie élémentaire théorique et pratique*, tome quatrième, 6^e Ed., Crochard, Paris, 1835, vol. 4, p. 350-1, vol. 5, p. 60.
- [6] J.B. Biot, *Comptes Rendus*, 1840, **XI**, 1028.
- [7] J.B. Biot, *Instructions pratiques sur l'observation et la mesure des propriétés optiques appelées rotatoires*, 1845, Bachelier, Paris.
- [8] L. Hunton, *London and Edinburgh Phil. Mag. and J. of Sci.*, 1837, **11**(33), 152.
- [9] E. Mitscherlich, *Ann. Der Physik*, 1840, **125**(2), 401.
- [10] K.A. Trommer, *Annal. der Chem. und Pharm.*, 1841, **39**, 360.
- [11] J. Wisniak, *Rev. CENIC Cienc. Biol.*, 2020, **51**(1), 57.
- [12] a) E. Péligot, *Bull. Soc. Enc. Ind. Nat.*, 1844, **43**, 266; b) E. Péligot, *Journal de Pharmacie*, 1844, 3^e série, 301.
- [13] C. Fromherz, *Lehrbuch der medizinischen Chemie*, Groos, Freiburg, 1832, p. 310.
- [14] M.A. Chevallier, *Dictionnaire des alterations et falsifications des substances alimentaires*, tome 2, Béchet Jeune, Paris, 1852, p. 377.
- [15] J.B. Dumas, *Traité de chimie appliquée aux arts*, Tome 6, Bechet Jeune, Paris, 1843, p. 272.
- [16] H. Müller, *J. Chem. Soc. Trans.*, 1886, **49**, 346.
- [17] H. Fehling, *Arch. für physiol. Heilk.*, 1848, **7**, 64.
- [18] H. Fehling, *Ann. der Chemie und Pharm.*, 1849, **72**(1), 106.
- [19] H. Fehling, *Ann. der Chemie und Pharm.*, 1858, **106**, 75.

