



*Dedicato a Raffaella Porto*

© 2008 Klipper Edizioni S.r.l.  
Via Francesco Petrarca n°14 - 87100 Cosenza  
[www.klipper.it](http://www.klipper.it) - [info@klipper.it](mailto:info@klipper.it)  
ISBN: 978-88-88823-75-9



**XXI Convegno Nazionale  
della Divisione di Chimica Analitica  
della Società Chimica Italiana**

A cura di  
**Anna Napoli**  
**Antonio Tagarelli**

**Atti del Convegno**

KLIPPER



# **XXI Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Analitica della Società Chimica Italiana**

## **Il ruolo della Chimica Analitica nella tutela della salute**

*21-25 Settembre 2008, Centro Congressi "Aula Magna"  
Arcavacata di Rende (CS)*

---

### **COMITATO ORGANIZZATORE**

Anna Napoli  
Giovanni Sindona  
Antonio Tagarelli  
Emilia Furia  
Donatella Aiello

### **SEGRETERIA**

Antonella Aragona  
Dipartimento di Chimica  
Università della Calabria

### **COMITATO SCIENTIFICO**

Maria Careri (presidente)  
Pier Giuseppe Daniele  
Luca Ferrari  
Salvatore Foti  
Giuseppe Geda  
Antonio Gianguzza  
Alessandro Grigato  
Cosimino Malitesta  
Pietro Mazzeo  
Pierluigi Reschiglian  
Aldo Roda  
Giuseppe Scarponi



**Il XXI Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Analitica della Società Chimica Italiana si svolge con il Patrocinio di:**

UNIVERSITÀ DELLA CALABRIA



[www.unical.it](http://www.unical.it)

FBP

FONDAZIONE BONINO-PULEJO  
MESSINA

[www.fbpme.it](http://www.fbpme.it)

A.R.P.A.CAL.

The logo for A.R.P.A.CAL. features a stylized green 'A' shape above a blue horizontal line, with the text 'A.R.P.A.CAL.' in blue below it.

[www.arpacal.it](http://www.arpacal.it)



Si ringraziano gli Sponsor:



**Agilent Technologies**

[www.agilent.it](http://www.agilent.it)



[www.appliedbiosystem.com](http://www.appliedbiosystem.com)



[www.sinergieanalitiche.it](http://www.sinergieanalitiche.it)



[www.carloerbareagenti.com](http://www.carloerbareagenti.com)



[www.dionex.com](http://www.dionex.com)



[www.labservice.it](http://www.labservice.it)



[www.las.perkinelmer.com](http://www.las.perkinelmer.com)



[www.thermo.com](http://www.thermo.com)



[www.varianinc.com](http://www.varianinc.com)



[www.waters.com](http://www.waters.com)



## Indice

<i>Programma del Convegno</i>		I
<i>Conferenze Plenarie</i>	PL1-PL3	pag. 1
<i>Simposio Etica e Ambiente</i>		pag. 7
<i>Chimica Analitica e Alimenti</i>	OAL_1-OAL_12	pag. 11
<i>Tecniche combinate</i>	OTC_1-OTC_12	pag. 23
<i>Beni Culturali</i>	OBC_1-OBC_3	pag. 35
<i>Beni culturali - Spettroscopia Analitica</i>	OBC-SA_1- OBC-SA_6	pag. 38
<i>Proteomica - Bioanalitica</i>	OPR-BA_1-OPR-BA_13	pag. 44
<i>Tecniche Separative</i>	OTS_1 - OTS_9	pag. 57
<i>Equilibri in soluzione</i>	OEQ_1 - OEQ_9	pag. 66
<i>Chemiometria</i>	OCH_1- OCH_4	pag. 75
<i>Chimica Analitica e Ambiente</i>	OAM_1-OAM_12	pag. 79
<i>Sensori- Elettroanalitica</i>	OSE-EA_1- OSE-EA_12	pag. 91



## DOMENICA 21 SETTEMBRE

15:00 **Registrazione dei partecipanti**

21:00 **Cocktail di Benvenuto**

## LUNEDÌ 22 SETTEMBRE

### Aula Magna

9:00 **Apertura dei lavori, saluto delle Autorità, conferimento delle medaglie Canneri e Liberti**

Presiede: M. Careri

10:00 PL1 **Transforming molecular technologies for clinical translational research: analysis of biopsies and other tissues by mass spectrometry**  
*Richard Caprioli*

11:00 **Coffee Break**

Presiede: A. Roda

11:20 **Tavola rotonda "Il ruolo della Chimica Analitica nella tutela della salute"**

Intervengono: *Prof. Vincenzo Mollace (Direttore ARPACAL),  
Dott. Antonello Nomato (Dirigente del Laboratorio  
Ospedale S.Giovanni Battista, TO),  
Dott. Stefano Raccanelli (Consorzio INCA, VE)*

Presiede: L. Campanella

12:50 **Conferenza su Etica e Ambiente: opportunità per la chimica**  
*Francesco Dondi*

13:30 **Pranzo**

### Alimenti 1

Presiede: C. Corradini

15:30 OAL\_1 **Applicazione di analisi Multi-way in un contesto agro-alimentare**  
*C. Durante, M. Cocchi, S. Manzini, A. Marchetti, M. Grandi, M. Li Vigni,  
S. Sighinolfi, S. Totano, L. Tassi*

- 15:50 OAL\_2 **Studi preliminari di tracciabilità e autenticazione in filiere alimentari mediante determinazione dei lantanidi con ICP-MS**  
*M. Oddone, E. Robotti, E. Marengo, M. Baldizzone, M. Aceto*
- 16:10 OAL\_3 **La distribuzione elementare come parametro per l'identificazione dell'origine del pomodoro**  
*G. Lo Feudo, B. Macchione, A. Naccarato, G. Sindona, A. Tagarelli*
- 16:30 **Sessione Poster**
- 17:30 **Assemblea**
- 21:00 **Cena**

**Sala Stampa**

**Tecniche combinate 1**

- 15:30 OTC\_1 Presiede: G. Sindona  
**Alchilazione di ribonucleotidi complementari: uno studio mediante HPLC-ESI-MS e MS<sup>n</sup>**  
*I. Losito, R. Angelico, S. Diomede, G. De Zio, A. Ceglie, F. Palmisano, P.G. Zambonin*
- 15:50 OTC\_2 **Structural determination of new flavonoids in bergamot**  
*L. Di Donna, G. De Luca, F. Mazzotti, A. Napoli, R. Salerno, D. Taverna, G. Sindona*
- 16:10 OTC\_3 **Identificazione dei biomarker usati dai batteri Gram-negativi per la comunicazione intercellulare mediante cromatografia liquida e spettrometria di massa con trappola ionica ciclotronica in trasformata di Fourier (LC-ESI-FTICR-MS)**  
*G. Bianco, S. Abate, T.R.I. Cataldi*
- 16:30 **Sessione Poster**
- 17:30 **Assemblea**
- 21:00 **Cena**

## MARTEDÌ 23 SETTEMBRE

### Aula Magna

- 9:00 PL2 Presiede: G. Sindona  
**New analytical possibilities of Imaging Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) in brain research**  
*J. Sa. Becker, M. Zoriv, B. Wu, D. Salber, C. Palm, J. Su. Becker*

### Alimenti 2

- 10:00 OAL\_4 Presiede: L. Mondello  
**Determinazione della qualità e della genuinità di oli extra-vergini di oliva mediante misure spettroscopiche ed elettrochimiche in matrice**  
*M. Del Carlo, A. Cichelli, L. Cerretani, G. Lercker, D. Compagnone*
- 10:20 OAL\_5 **Applicazione di tecniche SPME e GCMS per la caratterizzazione della frazione volatile di vini Brachetto d'Acqui ed analisi statistica multivariata su variabili chimiche e parametri organolettici**  
*M. Baldizzone, M. Oddone, L. Deagostini, E. Robotti, E. Marengo, M. Aceto*
- 10:40 OAL\_6 **Determinazione di diesteri e monoesteri dell'acido ftalico in campioni di latte umano e di formulati per l'infanzia**  
*M. Del Bubba, P. Galvan, L. Lamperi, D. Fibbi, A. Cincinelli*

11:00 **Coffee Break**

### Alimenti 3

- 11:20 OAL\_7 Presiede: T. R. I. Cataldi  
**Determinazione di aflatossine in campioni di cereali mediante SPME-HPLC e derivatizzazione fotochimica on-line post-colonna**  
*M. Quinto, G. Spadaccino, C. Palermo, D. Centonze, T. Rotunno*
- 11:40 OAL\_8 **Confronto tra l'uso di colonne HPLC in fase inversa accoppiate in serie e la cromatografia liquida "comprehensive" per la caratterizzazione di carotenoidi in prodotti agrumari**  
*P. Dugo, D. Giuffrida, M. Herrero, P. Donato, L. Mondello*
- 12:00 OAL\_9 **Sviluppo di uno screening multiresiduo per la determinazione di farmaci e promotori di crescita su bovini da carne**  
*M. Leparati, M. Vincenti, P. Capra, D. Di Corcia, C. Rossino*

- 12:20 OAL\_10 **Nuove ricerche sui parametri cinetici del processo termossidativo isoterma dell'olio di oliva**  
*L. Campanella, R. Dragone, A. Nuccilli, M. Tomassetti, S. Vecchio*
- 12:40 OAL\_11 **Resine chelanti quali sonde per la determinazione della concentrazione di metallo ione libero in matrici complesse contenenti leganti forti**  
*M. Pesavento, A. Profumo, G. Alberti, R. Biesuz*
- 13:00 OAL\_12 **Identificazione con tecnica TL di prodotti ittici irraggiati**  
*G. Marchesani, A.E. Chiaravalle, M. Mangiacotti*
- 13:30 **Pranzo**
- 15:00 **Gita Sociale + cena folkloristica**

### Sala Stampa

#### Tecniche combinate 2

- 10:00 OTC\_4 **Studi di fotodegradazione dei coloranti E110 e E122 in un aperitivo mediante HPLC-DAD-MS/MS**  
*F. Gosetti, P. Frascarolo, E. Mazzucco, V. Gianotti, M. Bottaro, M.C. Gennaro*
- 10:20 OTC\_5 **Determinazione di bromo- e cloro-anisoli in campioni di vino mediante microestrazione in fase solida (SPME-HS) e gas-cromatografia con spettrometria di massa ad alta risoluzione (GC-HRMS)**  
*G. Novario, R. Zianni, G. Bianco, T.R.I. Cataldi*
- 10:40 OTC\_6 **Overcoming signal suppression and other matrix effects in nano-HPLC-MS using electron ionization**  
*V. Termopoli, H. Trufelli, G. Famigliani, E. Pierini, P. Palma, A.Cappiello*
- 11:00 **Coffee Break**

#### Tecniche combinate 3

- 11:20 OTC\_7 **Tecniche Cromatografiche Multidimensionali (Comprehensive) accoppiate alla spettrometria di massa per l'analisi di miscele**

**complesse**

L. Mondello

- 11:40 OTC\_8 **Approccio alla cromatografia micro e nano nell'interfacciamento alla spettrometria di massa**  
A. Di Pinti
- 12:00 OTC\_9 **Recenti sviluppi nella tecnica comprehensive**  
G. Stani, E. Sebastiani, A. Miliazza, G. Corbelli
- 12:20 OTC\_10 **Elettroforesi capillare spettrometria di Massa (CE-MS): metodi innovativi di indagine per la determinazione di descrittori molecolari di prodotto e/o di processo negli alimenti**  
C. Corradini, A. Cavazza, C. Merusi, P. Salvadeo
- 12:40 OTC\_11 **Nanoparticelle di Au e nanostrutture frattaliche di Ag: caratterizzazione spettroscopica e applicazione in spettrometria di massa MALDI-MS**  
N. Cioffi, L. Colaianni, C. D. Calvano, R. Pilolli, F. Palmisano, P.G. Zambonin
- 13:00 OTC\_12 **Hybrid Fourier Transform Mass Spectrometer Varian 920-MS: A New Powerful Tool for High Resolution Mass Spectrometry**  
J. Su. Becker, K. Pihakari
- 13:30 **Pranzo**
- 15:00 **Gita Sociale + cena folkloristica**

**Sala A**

**Beni culturali**

- 10:00 OBC\_1 Presiede: G. A. Mazzocchin  
**Graffiti: caratterizzazione chimica di vernici spray e pennarelli indelebili**  
I. Van der Werf, F. Palmisano, L. Sabbatini
- 10:20 OBC\_2 **Ricostruzione della tavolozza di un manoscritto illuminato del XIV secolo con tecniche non invasive**  
M. Aceto, A. Agostino, M. Gulmini, E. Pellizzi, V. Bianco, S. Castronovo
- 10:40 OBC\_3 **Una nuova metodologia analitica di microscopia**

**immunochemiluminescente per l'identificazione e localizzazione di componenti proteici in multistrati pittorici**

*L.S. Dolci, G. Sciutto, M. Guardigli, R. Mazzeo, A. Roda*

11:00 **Coffee Break**

**Beni culturali – Spettroscopia Analitica 1**

Presiede: A. Rossi

11:20 OBC-SA\_1 **Uno studio di spettroscopia fotoelettronica in risoluzione angolare di campioni di carta sottoposta ad invecchiamento artificiale**

*D. Addari, D. Atzei, L. Campanella, P. Calvini, C. Costanza, A. Gorassini, A. Zappalà, A. Rossi*

11:40 OBC-SA\_2 **Analisi del degrado di paste vitree dei mosaici parietali della Basilica di San Lorenzo fuori le mura in Roma. Strategia di ricerca per nuovi metodi di consolidamento**

*F. Napoleoni, F. Valentini, A. Diamanti, L. Micheli, C. Mazzuca, F. Spaziani, M. Proposito, C. Cremisini, S. Lo Mastro, A. Mottana, D. Pitzalis, C. S. Salerno, G. Palleschi*

12:00 OBC-SA\_3 **Studio XPS sulla stabilità di nanostrati di ossido su acciai privi di nichel**

*M. Fantauzzi, C.F. Carta, B. Elsener, R. Biesuz, G. Alberti, A. Rossi*

12:20 OBC-SA\_4 **Sviluppo di un metodo chemiluminescente per la determinazione di esplosivi a base di perossidi**

*P. Caputo, E. Maiolini, E. Ferri, G. Guarnieri, F. Greci, S. Girotti*

12:40 OBC-SA\_5 **Caratterizzazione elettrochimica e spettroscopica di un sensore nanostrutturato per la determinazione amperometrica dell'acqua ossigenata**

*M.R. Guascito, C. Malitesta, D. Chirizzi*

13:00 OBC-SA\_6 **Progettazione e performance di una nuova cella a flusso ciclonico per laser ablation**

*D. Monticelli, R. Hergenröder, E. L. Gurevich, C. Dossi*

13:30 **Pranzo**

15:00 **Gita Sociale + cena folkloristica**

# MERCOLEDÌ 24 SETTEMBRE

## Aula Magna

9:00 PL3 Presiede: A. Roda  
**Chip-based analytical methods for clinical chemistry**  
*Andreas Manz*

### Proteomica-Bioanalitica 1

10:00 OPR-BA\_1 Presiede: S. Foti  
**Supporti immuno-magnetici per il trattamento del campione per tecniche ELISA e LC-MS/MS. Determinazione di allergeni nascosti in alimenti**  
*F. Speroni, M. Terenghi, L. Elviri, M. Careri, A. Mangia*

10:20 OPR-BA\_2 **HPIC-PED Una tecnica cromatografica ad Alta risoluzione per lo studio delle glicoproteine**  
*F. Abballe*

10:40 OPR-BA\_3 **Utilizing Discovery Data to Expedite Targeted Protein Quantitation Methods**  
*G. Vago, M. Scigelova, S. Peterman, A. Prakash, M. Lopez*

11:00 **Coffee break**

### Proteomica-Bioanalitica 2

11:20 OPR-BA\_4 Presiede: P. Reschiglian  
**Nuove applicazione iTRAQ in proteomica**  
*A. Palmese, G. Chiappetta, C. Corbo, G. Marino, A. Amoresano*

11:40 OPR-BA\_5 **Multiplexed glycoproteomic analysis of glycosylation disorders by sequential IgY immunoseparation and MALDI TOF MS**  
*D. Garozzo, L. Sturiale, A. Barone, A. Messina, A. Parmigiano*

12:00 OPR-BA\_6 **Analysis of sweet orange flesh proteome at ripening time and comparison with transcription data**  
*V. Muccilli, V. Cunsolo, R. Saletti, C. Licciardello, D. Fontanini, M. P. Russo, G. Reforgiato Recuperato, S. Foti*

12:20 OPR-BA\_7 **Advances in MALDI MS Imaging using the 4800 Plus MALDI TOF/TOF™ Analyzer**  
*M. Glueckmann, F. Abdi, G. Impey, H. M. Snijders*

12:40 OPR-BA\_8 **Studio MALDI-ToF-MS del profilo peptidico urinario per la ricerca di biomarker in soggetti con cancro alla prostata: analisi dei fattori critici**  
*C. D. Calvano, A. Aresta, M. Iacovone, F. Palmisano, P. G. Zambonin, C. Bettocchi*

13:00 OPR-BA\_9 **Differential protein profiling analysis of intestinal epithelial cells by LC ESI/QTOF mass spectrometry**  
*P. Nanni, L. Mezzanotte, G. Roda, F. Levander, P. James, E. Roda, A. Roda*

13:30 **Pranzo**

14:30 **Sessione Poster**

<b>Proteomica-Bioanalitica 3</b>
----------------------------------

Presiede: G. Palleschi

15:30 OPR-BA\_10 **Un approccio integrato alla caratterizzazione lipoproteomica del siero umano**  
*A. Zattoni, D. C. Rambaldi, P. Reschiglian, A. Amoresano, G. Chiappetta, D. Donnarumma, G. Marino, C. Johann*

15:50 OPR-BA\_11 **Proteomics in cultural heritage**  
*L. Birolo, G. Leo, L. Cartechini, A. Sgamellotti, G. Marino*

16:10 OPR-BA\_12 **Superfici bioingegnerizzate per lo sviluppo di nuovi metodi ibridi di sorting basati sul frazionamento in campo gravitazionale-flusso**  
*B. Roda, S. Casolari, A. Zattoni, P. Reschiglian, M. Mirasoli, A. Roda*

16:30 OPR-BA\_13 **Label-Free quantification of cardiac membrane proteins using two-dimensional LC-MS**  
*K. R. Compson, H. Vissers, S. Geromanos, M. Stapels, C. Dorschel, J. Langridge, P. Donoghue, M. Dunn*

17:00 **Coffee break**

<b>Ambiente 1</b>
-------------------

Presiede: R. Fuoco

17:15 OAM\_1 **Results from the 7th Circuit INterlaboratory for Dioxins (CIND)**  
*S. Raccanelli, S. Libralato*

17:35 OAM\_2 **Application of analytical pyrolysis to study source apportionment**

**of atmospheric aerosol**

*C. Torri, D. Fabbri, L. Marynowski, B.R.T. Simoneit*

- 17:55 OAM\_3 **Interazione tra erbicidi e matrici naturali**  
*M.C. Cavallero, L. Colonna, D. Fabbri, M. Ginepro, E. Pramauro, M. Zambrotta, V. Zelano*
- 18:15 OAM\_4 **Analisi HPLC/PDA di fitormoni nei fertilizzanti: sviluppo del metodo e validazione statistica**  
*G. L. Gambino, P. Pagano, M. Scordino, L. Sabatino, E. Scollo, P. Traulo, G. Gagliano*
- 18:35 **Riunione Gruppi Divisionali**
- 21:00 **Cena sociale**

**Sala Stampa**

**Tecniche separative 1**

Presiede: D. Corradini

- 10:00 OTS\_1 **Studio di colonne cromatografiche in fase inversa basato sulle Relazioni Quantitative Struttura/Eluente-Ritenzione**  
*F. Ruggieri, A. A. D'Archivio, M. A. Maggi, P. Mazzeo*
- 10:20 OTS\_2 **Ottimizzazione mediante metodi di pianificazione sperimentale di un metodo HPLC-UV per l'identificazione e determinazione di ammine biogene e amminoacidi precursori**  
*E. Mazzucco, F. Gosetti, M. Bobba, Emilio Marengo, Maria Carla Gennaro*
- 10:40 OTS\_3 **Sviluppo di nano-colonne LC e loro impiego nella LC/MS**  
*I. Leonardis, P. Palma, A. Siviero, M. Bergna, A. Capiello*
- 11:00 **Coffee break**

**Tecniche separative 2**

Presiede: F. Dondi

- 11:20 OTS\_4 **Determinazione di sostanze ad attività antiestrogenica in urina umana: sviluppo e validazione di un metodo analitico in fast-GC/MS**  
*E. Gerace, A. Salomone, S. Racca G. Abbadessa, M. Vincenti*

- 11:40 OTS\_5 **Sviluppo di nuovi coating con recettori supramolecolari per microestrazione in fase solida**  
*E. Bianchi, M. Mattarozzi, P. Betti, F. Bisceglie, M. Careri, A. Mangia, L. Sidisky, S. Ongarato, E. Dalcanale*
- 12:00 OTS\_6 **Meccanismi di controllo del flusso elettroosmotico e della mobilità elettroforetica in elettroforesi capillare**  
*D. Corradini, C. Bello, A. De Rossi, F. Siepe, I. Nicoletti*
- 12:20 OTS\_7 **Disegno di miscele nell'ottimizzazione di un metodo di MEEKC per il controllo di qualità dell'antimuscarinico oxibutinina**  
*S. Furlanetto, I. Giannini, S. Orlandini, S. Pinzauti*
- 12:40 OTS\_8 **Flow Field Flow Fractionation ed ICP-AES per l'analisi di nanoparticelle di TiO<sub>2</sub>**  
*C.Contado, A. Pagnoni*
- 13:00 OTS\_9 **Cromatografia Tridimensionale Comprehensive Off-line LC-GCxGC Accoppiata ad uno Spettrometro di Massa per l'Analisi del Gasolio**  
*D. Sciarrone, P.Q. Tranchida, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello*

13:30 **Pranzo**

14:30 **Sessione Poster**

<b>Chemiometria</b>
---------------------

Presiede: M. Cocchi

- 15:30 OCH\_1 **Tecniche chemiometriche nell'archeometallurgia: studi di classificazione e di provenienza di minerali e antichi oggetti di rame**  
*B.Giussani, M. Marelli, S. Recchia, I. Giunti, I. Angelini, G. Artioli*
- 15:50 OCH\_2 **Studio dell'olio e.v. di oliva durante lo stoccaggio mediante NIR e metodi chemiometrici**  
*M. Casale, P. Oliveti, C. Casolino, M. Forina*
- 16:10 OCH\_3 **Sviluppo di un modello di calibrazione per il controllo di qualità nella produzione di copolimeri etilene/propilene mediante l'utilizzo della spettroscopia FT-IR, di metodi di regressione multivariata e reti neurali artificiali**  
*M. Bobba, E. Marengo, E. Robotti, M. Demartini, O. Zerbinati, S. Di Martino*

16:30 OCH\_4 **Valutazione del segnale e del rumore nella calibrazione di uno spettrometro di massa ESI con trappola ionica mediante metodi statistici multivariati di pattern recognition**  
*E. Robotti, E. Marengo, F. Gosetti, M. C. Gennaro*

17:00 **Coffee Break**

**Sensori - Elettroanalitica 1**

Presiede: L. Sabbatini

17:15 OSE-EA\_1 **Elettrodi Modificati con Materiale Composito PEDOT/Nanoparticelle d'Oro per la Determinazione di Mercurio in Tracce Tramite Stripping Anodico**  
*M. Giannetto, F. Amico, G. Mori, F. Terzi, L. Pigani, C. Zanardi, R. Seeber*

17:35 OSE-EA\_2 **Metodi bioanalitici basati su biosensori a DNA per l'individuazione di doping genetico**  
*M. Minunni, S. Scarano, P. Bogani, S. Tombelli, M. Buratti, M. Mascini*

17:55 OSE-EA\_3 **Un biosensore a doppio elettrodo per la determinazione simultanea di fosfocolina e colina in flusso**  
*A. Guerrieri, R. Ciriello*

18:15 OSE-EA\_4 **Sviluppo di sensori stampati modificati con film di bismuto per la determinazione del Pb<sup>2+</sup>: applicazioni in campo ambientale e alimentare**  
*J. Calvo Quintana, F. Arduini, A. Amine, C. Forni, G. Palleschi, D. Moscone*

18:35 **Riunione Gruppi Divisionali**

21:00 **Cena sociale**

**Sala A**

**Equilibri in soluzione 1**

Presiede: M. Pesavento

10:00 OEQ\_1 **Modelli di speciazione per la chimica acido-base di vini bianchi**  
*E. Prenesti, P.G. Daniele, S. Berto*

10:20 OEQ\_2 **Caratterizzazione dell'adsorbimento del Fe(III) su una membrana chelante. Equilibri cinetici e termodinamici**

*G. Alberti, M. G. Guiso, I. Torrisi, M. Pesavento, R. Biesuz*

10:40 OEQ\_3 **Complessazione all'Interfaccia Soluzione-FePO<sub>4</sub>(am).  
Adsorbimento di ioni Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> e Cr<sup>3+</sup>**  
*M. Iuliano, G. De Tommaso, L. Ciavatta, G. Germano*

11:00 **Coffee break**

<b>Equilibri in soluzione 2</b>
---------------------------------

11:20 OEQ\_4 **Coefficienti di attività di varie classi di leganti da misure  
potenziometriche e di solubilità**  
*C. Bretti, R. M. Cigala, F. Crea, C. Foti, S. Sammartano*

11:40 OEQ\_5 **Effetto della forza ionica sugli equilibri acido-base della L(-) cistina**  
*M. Falvo, E. Furia, R. Porto*

12:00 OEQ\_6 **Studio dell'effetto del mezzo sulle costanti di protonazione di classi  
di leganti**  
*C. Foti, O. Giuffrè, D. Milea, S. Sammartano*

12:20 OEQ\_7 **Chimica di superficie su FePO<sub>4</sub>(am). Proprietà Acido-Base**  
*M. Iuliano, G. De Tommaso, L. Ciavatta, G. Germano*

12:40 OEQ\_8 **Determinazione di Fe(II) e Fe(III) in preparazioni iniettabili di  
Fe(III) saccarato e Fe(III) sodio gluconato**  
*D. Merli, A. Profumo*

13:00 OEQ\_9 **Determinazione di nitroderivati aromatici in terreni e acque tramite  
elettrodi chimicamente modificati con SWCNT**  
*A. Profumo, D. Merli, G. D'Agostino, M. Pesavento*

# GIOVEDÌ 25 SETTEMBRE

## Aula Magna

### Ambiente 2

Presiede: P. Cescon

9:00 OAM\_5 **Direct determination of Platinum Group Element (PGE) emissions in passenger cars equipped with Diesel Particulate Filters (DPF)**  
*W. R.L. Cairns, A. De Boni, G. Cozzi, M. Asti, E. M. Borla, F. Parussa, P. Cescon, C. Boutron, C. Barbante*

9:20 OAM\_6 **Composizione e analisi chemiometrica del PM10 monitorato nell'area urbana della città di Torino**  
*M. Malandrino, O. Abollino, G. Agnese, C. E. Casalino, M. Di Martino, M. Grosa, E. Mentasti*

9:40 OAM\_7 **Analisi in continuo di elementi in tracce in una carota di ghiaccio alpino mediante ICP-QMS**  
*G. Cozzi, J. Gabrieli, P. Vallelonga, C. Barbante, P. Cescon*

10:00 OAM\_8 **La deposizione di inquinanti organici persistenti (POPs) negli ultimi 500 anni a Talos Dome (Antartide)**  
*R. Fuoco, S. Giannarelli, M. Onor, S. Ghimenti, C. Abete, M. Termine, S. Francesconi*

10:20 OAM\_9 **Un sistema integrato in Chemical Flow Analysis e Fast Ion Chromatography per la ricostruzione di stratigrafie chimiche in carote di ghiaccio in Antartide**  
*M. Severi, S. Becagli, E. Castellano, O. Cerri, F. Marino, A. Morganti, R. Traversi, R. Udisti*

10:40 OAM\_10 **Determinazione di ferro disciolto in acqua di mare mediante coprecipitazione con Mg(OH)<sub>2</sub> e analisi ICP-DRC-MS**  
*M. Grotti, F. Soggia, R. Frache*

11:00 **Coffee break**

### Ambiente 3

Presiede: A. Napoli

11:20 OAM\_11 **Sviluppo e ottimizzazione di metodi in Sector Field ICP-MS per la determinazione di elementi in tracce, REE's e elementi maggiori in campioni di sedimenti marini**

*F. Rugi, E. Castellano, F. Marino, M. Severi, R. Udisti*

11:40 OAM\_12 **Caratterizzazione delle scorie di incenerimento di RSU per ottimizzare il trattamento di carbonatazione**  
*M. Piredda*

12:00 **Chiusura lavori**

## Sala Stampa

### Sensori - Elettroanalitica 2

Presiede: G. Scarponi

9:00 OSE-EA\_5 **Multilayers containing Au nanoparticles as new materials for amperometric sensors**  
*F. Terzi, B. Zanfognini, C. Zanardi, L. Pigani, T. Ääritalo, J. Lukkari, R. Seeber*

9:20 OSE-EA\_6 **Electrochemical Genosensor: Probe design and immobilization**  
*R. Arra, F. Cugia, I. Palchetti, G. Marrazza, M. Mascini*

9:40 OSE-EA\_7 **Tecniche voltammetriche per lo studio della speciazione di metalli nelle acque naturali: limiti e vantaggi**  
*G. Capodaglio, E. Morabito, F. Corami, P. Cescon*

10:00 OSE-EA\_8 **Studio spettroelettrochimico dei poliossometallati tipo Keggin in soluzioni H<sub>2</sub>O-diossano**  
*S. Dsoke, P. Mignini, A. Kolary-Zurowska, A. Zurowski, P.J. Kulesza, R. Marassi*

10:20 OSE-EA\_9 **Riduzione elettrocatalizzata dell'O<sub>2</sub> in liquido ionico**  
*R. Toniolo, A. Pizzariello, S. Susmel, N. Dossi, G. Bontempelli*

10:40 OSE-EA\_10 **Impiego di microelettrodi di platino mesoporoso in problematiche analitiche**  
*D. Battistel, S. Daniele, C. Bragato, M. Antonietta Baldo*

11:00 **Coffee Break**

### Sensori - Elettroanalitica 3

Presiede: G. Mori

11:20 OSE-EA\_11 **Studio spettroelettrochimico delle basi del DNA in ambiente**

**apolare**

*T.Caruso, A. Capobianco, A. Peluso, Rosanna Viscardi*

11:40 OSE-EA\_12 **Studio del bioaccumulo di Cd nel fegato del teleosteo antartico *Trematomus bernacchii* mediante voltammetria di ridissoluzione anodica**  
*S. Illuminati, C. Truzzi, A. Annibaldi, E. Bassotti, G. Scarponi*

12:00 **Chiusura lavori**



**Lunedì 22 Settembre ore 16:30 - 17:30**  
**I SESSIONE POSTER P1-P64**

- SA\_P1 **Applicazioni analitiche del parametro Auger**  
*Rigoldi A., Fantauzzi M., Elsener B., Atzei D., Rossi A.*
- SA\_P2 **Spectroscopic characterization of thin layers of lipoprotein self-assembled films on gold electrodes and devices**  
*Tache A., Cotrone S., Litescu S.C., Cioffi N., Ditaranto N., Torsi L., Radu G.L., Sabbatini L.*
- TS\_P3 **Utilizzo di fasi stazionarie HPLC parzialmente porose in cromatografia "comprehensive" (LCxLC)**  
*Cacciola F., Donato P., Dugo P., Dugo G., Mondello L.*
- TS\_P4 **Cromatografia gassosa multidimensionale (GC x GC): ottimizzazione dei flussi in entrambi le dimensioni**  
*Tranchida P.Q., Mondello M., Dugo P., Dugo G., Mondello L.*
- TS\_P5 **Separazione HPLC in modalità Rapid Resolution e caratterizzazione MS e MS/MS di derivati Zn ftalocianinici coniugati a oligopeptidi**  
*Gordano C., Municchi M., Chiti G., Nistri D., Roncucci G.*
- TS\_P6 **Disegno sperimentale frazionario e regressione lineare multivariata nella separazione di NSAIDs: ottimizzazione della risposta e derivazione di modelli predittivi**  
*Carlucci G., Marrone A., Iuliani P.*
- TS\_P7 **Separazione cromatografica (LC) e caratterizzazione ESI-LTQ-FTMS di nido-caborani: rilascio facile di idrogeno molecolare**  
*Cataldi T.R.I., Ricciardi G., Pietrangeli D., Bianco G., Abate S.*
- TS\_P8 **Valutazione dell'uso degli esteri metilici e degli esteri etilici degli acidi grassi come composti di riferimento per il calcolo degli indici di ritenzione lineari nella gascromatografia**  
*Salvatore A., Dugo P., Dugo G., Mondello L.*
- TS\_P9 **Liquidi Ionici a Temperatura Ambiente (RTILs) come Fase Stazionaria per la Separazione di Isomeri Cis/Trans di Esteri Metilici di Acidi Grassi Insaturi.**  
*Ragonese C., Tranchida P.Q., Dugo P., Dugo G., Mondello L.*

- TS\_P10 **Analisi dei metaboliti della caffeina in campioni di urina mediante LC-ESI-FTICR-MS e spettrometria di massa tandem in trappola ionica lineare (LTQ)**  
*Labella C., Bianco G., Abate S., Cataldi T.R.I.*
- TS\_P11 **Interpretazione dei picchi isotopici A+2 dei glucosinolati in seguito a cromatografia liquida con ionizzazione ES e spettrometria di massa tandem**  
*Orlando D., Lelario F., Rubino A., Bufo S.A., Cataldi T.R.I.*
- TS\_P12 **Protocollo analitico integrato LC/MS per la valutazione di trattamenti post-raccolta negli agrumi di importazione**  
*Scordino M., Sabatino L., Pagano P., Gargano M., Pantò V., Gambino G.L., Traulo P., Gagliano G.*
- TS\_P13 **Determinazione cromatografica del resveratrolo ed alcuni composti flavonoidi tramite rivelazione spettrofotometrica previa estrazione liquido-liquido.**  
*Ritorti M., Casella. I.G.*
- TS\_P14 **Monitoring of illicit drugs in biological fluids by HPLC-MS/MS**  
*Sergi M., Bafile E., Compagnone D., Curini R., Fabrizi G., Romolo F.S.*
- TS\_P15 **Nuovi coating elettrosintetizzati per microestrazione in fase solida con recettori molecolari funzionalizzati con 2,2'-bitiofene**  
*Bianchi F, Giannetto M., Mattarozzi M.*
- TS\_P16 **Validazione di un metodo analitico nella determinazione simultanea di zofenopril e idroclorotiazide: confronto tra spettrofotometria UV-vis in derivata e HPLC**  
*Di Federico L., Iuliani P., Carlucci G.*
- TC\_P17 **Caratterizzazione di legni provenienti da latifoglie e conifere mediante pirolisi analitica.**  
*Vinciguerra V., Napoli A., Petrucci G.*
- TC\_P18 **Valutazione della componente fenolica in oli extravergini d'oliva prodotti in diverse regioni italiane**  
*Romano E., Benincasa C., Caravita M.A., Bartoletti D., Parise M.R., Sposato M.R., Perri E., Pellegrino M.*
- TC\_P19 **Caratterizzazione e tracciabilità di oli di oliva monovarietali della Sardegna**  
*Romano E., Benincasa C., Caravita M.A., De Rose F., Parise M.R., Perri E., Bandino G.*

- TC\_P20 **Effetti dei processi produttivi su oli provenienti da diverse cultivar dell'Italia meridionale**  
*Romano E., Benincasa C., Caravita M.A., Bartoletti D., De Rose F., Parise A., Parise M.R., Perri E., Tucci P., Rizzati B.*
- TC\_P21 **Development of a new device for ultrasensitive electrochemiluminescence microscope imaging**  
*Dolci L.S., Marzocchi E., Zanarini S., Della Ciana L., Marcaccio M., Paolucci F., Roda A.*
- TC\_P22 **Characterization of new flavonoids in Pummelo juice by high resolution tandem mass spectrometry**  
*Taverna D., Salerno R., Di Donna L., Mazzotti F., Sindona G.*
- TC\_P23 **Sviluppo di un metodo LC/MS per l'analisi di proteine con alta efficienza e precisione**  
*Donato P., Cacciola F., Dugo P., Dugo G., Mondello L.*
- TC\_P24 **Identificazione e Quantificazione di Composti Nocivi nelle Benzine Mediante un Sistema Multidimensionale GC-MS**  
*Sciarrone D., Tranchida P.Q., Dugo P., Dugo G., Mondello L.*
- TC\_P25 **Confronto di procedure di clean-up e messa a punto di un metodo per la determinazione di pesticidi clorurati in campioni di mangimi per pesci mediante GC/MS tandem.**  
*Nardelli V., dell'Oro D., Casamassima F., Palermo C., Centonze D.*
- TC\_P26 **Campionamento solido grazie alla Laser Ablation accoppiata alla tecnica ICP-MS**  
*Bolchi M.*
- BC\_P27 **Utilizzo della tecnica analitica Laser Ablation -ICP-MS per studi geochimica nel campo dei Beni Culturali**  
*Barca D., Crisci G. M., De Francesco A. M., Miriello D.*
- BC\_P28 **Un approccio multianalitico per la caratterizzazione dei tessuti funerari di alcune mummie precolombiane**  
*Degano I., Colombini M.P., Modugno F.*
- BC\_P29 **Valutazione delle modalità di deposizione di sostanze impregnanti nei trattamenti conservativi del legno archeologico imbibito mediante microtomografia a raggi X con luce di sincrotrone**  
*Bugani S., Cagno S., Cloetens P., Colombini M.P., Giachi G., Janssens K., Łucejko J.J., Modugno F., Morselli L., Passarini F.*

- BC\_P30 **Studio del “San Pietro Martire” di Giovanni Bellini**  
*Van der Werf I., Monno A., Calvano C.D., Bonaduce I., Laviano R., Sabbatini L.*
- BC\_P31 **Confronto tra invecchiamento artificiale e naturale di campioni di carta**  
*Campanella L., Costanza C., D’Aguanno A., Di Carlo S.*
- BC\_P32 **Invecchiamento artificiale di carta extra strong: confronto di “trend” ottenuti mediante elaborazione cinetica di curve termoanalitiche**  
*Campanella L., Costanza C., Tomassetti M., Vecchio S.*
- BC\_P33 **Applicazione di tecniche analitiche per l’indagine archeometrica di malte storiche**  
*Corti C., Conti C., Giussani B., Ramazzi L., Roncoroni S.*
- BC\_P34 **Analisi colorimetrica su manufatti lignei policromi**  
*Cerchiara T., Venneri M., Chidichimo G., Ruffolo S., Gattuso C.*
- AL\_P35 **Condizioni sanitarie nel settore alimentare: controllo della contaminazione microbica**  
*Caputo P., Ferri E., Guarnieri G., Greci F., Lasi G., Gozzi S., Milesi F., Girotti S.*
- AL\_P36 **Residue analysis of cortisonics in bovine milk by LC tandem MS**  
*Gentili A., Caretti F., Mainero Rocca L., Ambrosi A., Perret D., Marchese S., D’Ascenzo G.*
- AL\_P37 **Ottimizzazione di un metodo RP-HPLC per isolare, identificare e quantificare le furanocumarine presenti in matrici naturali**  
*Cambria M., Russo M., Carnovale C., Piperno A., Dugo P., Mondello L.*
- AL\_P38 **Qualità e sicurezza di prodotti a denominazione d’origine**  
*Cocchi M., Durante C., Grandi M., Li Vigni M., Mancini S., Marchetti A., Sighinolfi S., Tassi L., Totano S.*
- AL\_P39 **Studio della risposta del rivelatore amperometrico pulsato in funzione del grado di polimerizzazione di fruttani impiegati come prebiotici in matrici alimentari**  
*Borromei C., Cavazza A., Corradini C., Merusi C.*
- AL\_P40 **Determinazione di polifenoli in bacche di uva da tavola mediante spettrometria di massa**  
*Del Zotti O., Foglia P., Giansanti P., Laganà A.*
- AL\_P41 **Analisi dell’olio essenziale di cedro estratto con tre differenti tecniche**  
*Gabriele B., Fazio A., Dugo P., Costa R., Mondello L.*

- AL\_P42 **Tracciabilità dell'olio extra-vergine di oliva pugliese mediante analisi HS-SPME-GC-MS della frazione volatile**  
*Damascelli A., Palmisano F., Zambonin C.*
- AL\_P43 **Latte di bufala autoarricchito di lattoferrina mediante processi separativi di membrana.**  
*Campanella L., Grossi R., Martini E., Pintore M.*
- AL\_P44 **Analisi enantioselettiva mediante MEKC di campioni di tè di diversa provenienza**  
*Furlanetto S., Lanteri S., Gotti R., Pinzauti S.*
- AL\_P45 **Caratterizzazione della componente volatile del pomodoro mediante analisi SPME-GC-MS e trattamento chemiometrico dei dati**  
*Lo Feudo G., Macchione B., Sindona G., Tagarelli A.*
- AL\_P46 **Contaminazione da ocratossine A e B in birre e vini commerciali**  
*D. Ventrice, D. Caponi, MC. Strongoli, C. Muscoli, A. Scalzo, DA. Rotiroti, V. Mollace*
- CH\_P47 **Messa a punto di una lingua artificiale voltammetrica per la discriminazione di oli di oliva**  
*Oliveri P., Baldo M.A., Daniele S., Forina M.*
- CH\_P48 **Utilizzo di descrittori molecolari 3-D WHIM e GETAWAY nell'ambito delle Relazioni Quantitative Struttura / Eluente-Ritenzione di pesticidi in HPLC in fase inversa**  
*D'Archivio A.A., Maggi M.A., Mazzeo P., Ruggieri F.*
- CH\_P49 **A chemometric model for assessment of real drug photodegradation from forced test**  
*De Luca M., Oliverio F., Ioele G., Ragno G.*
- CH\_P50 **Multivariate analysis for the evaluation of temporal variations in water quality of the South-Paris region**  
*De Luca M., Oliverio F., Ioele G., Husson G.P., Ragno G.*
- CH\_P51 **Analisi di droghe in polvere attraverso calibrazione multivariata basata su spettri NIR in riflettanza**  
*Melucci D., Alessandri M., D'Elia M., Luciano G., Leardi R.*
- CH\_P52 **Utilizzo di un elettrodo a pasta di nanotubi di carbonio per l'analisi di esplosivi mediante voltammetria pulsata di adsorbimento e ridissoluzione con calibrazione multivariata**  
*Melucci D., Alessandri M., Locatelli C.*

- CH\_P53 **Analisi di mappe gel-elettroforetiche SDS 2D-PAGE mediante decomposizione wavelet**  
*Demartini M., Marengo E., Robotti E., Bobba M., Cocchi M.*
- SE\_P54 **A fast electrochemical technique for characterisation of phenolic content in wine**  
*Dhroso A., Laschi S., Marrazza G., Mascini M.*
- SE\_P55 **Sviluppo di nuovi immunosensori, a trasduzione screen printed, confronto con i corrispondenti classici immunosensori amperometrici**  
*Campanella L., Favero G., Martini E., Mazzei F., Tomassetti M.*
- SE\_P56 **Electrochemical preparation of novel polyaniline films as promising materials in molecular imprinting**  
*Picca R.A., Chirizzi D., Malitesta C., Piletsky S.A.*
- SE\_P57 **Development of over-oxidized polypyrrole coated electrodes for the selective detection of dopamine**  
*Mazzotta E., Malitesta C.*
- SE\_P58 **Dispersione stabile di carbon black per aumentare le prestazioni analitiche degli elettrodi stampati monouso: un'applicazione per la determinazione del Hg<sup>2+</sup>**  
*Arduini E., Majorani C., Amine A., Cataldo F., Moscone D., Palleschi G.*
- SE\_P59 **Ottimizzazione di diversi tipi di immobilizzazione della colinesterasi su elettrodi stampati monouso per ottenere un biosensore con elevata stabilità operativa e tempo di vita**  
*Arduini F., Amine A., Moscone D., Palleschi G.*
- SE\_P60 **Determinazione dell'interferente endocrino BPA tramite un biosensore con tirosinasi immobilizzata su elettrodi stampati modificati con carbon black e tionina**  
*Di Tuoro D., Portaccio M., Mita D.G., Arduini F., Moscone D.*
- SE\_P61 **A new bioluminescent donor, *Gaussia luciferase*, for quantitative Bioluminescence Resonance Energy-Transfer (BRET) assays for estrogens**  
*Cevenini L., Nichelini E., Mezzanotte L., Roda A.*
- SE\_P62 **DNA biosensor for *Bonamia exitiosa* detection in *Ostrea edulis* samples**  
*Mascini M., Narcisi V., Del Carlo M., Compagnone D., Di Falco F., Tiscar P.G.*
- SE\_P63 **Innovative Electrochemical Genosensor based on Micro-Analytical Flow System**  
*Fernandez E.G., Laschi S., Palchetti I., Marrazza G., Mascini M., Rossier J.S.,*

Reymond F.

- SE\_P64 **Biotex: sensori indossabili per applicazioni biomediche**  
*Di Francesco F., Costanzo D., Salvo P., De Rossi D., Trivella M.G., Robert V., Diamone D., Lucrano J.*

**Mercoledì 24 Settembre ore 14:30 – 15:30**  
**II SESSIONE POSTER P65-P120**

- PR\_P65 **Caratterizzazione diretta di fitochelatine nitrosilate in cellule di *Arabidopsis thaliana* trattate con cadmio mediante LC-ESI-LIT-MS/MS e LC-ESI-QTOF-MS**  
*Speroni F., Terenghi M., Elviri L., De Michele R., Vurro E., Lo Schiavo F., Careri M., Mangia A.*
- PR\_P66 **Sindrome di Down e patologie associate: studio quantitativo dell'anidride carbonica II quale possibile biomarker**  
*Callido L., Gubbiotti R., Saperi R., Laganà A.*
- PR\_P67 **Identification and characterization of *Lycopersicon esculentum* Polygalacturonase.**  
*Indelicato S., Aiello D., Mazzotti F., Napoli A., Ceraulo L., Sindona G.*
- PR\_P68 **Identificazione e caratterizzazione di allergeni nella *Juglans Regia*.**  
*Aiello D., Di Donna L., Indelicato S., Napoli A., Sindona G.*
- PR\_P69 **Identification and characterization of parvalbumin variants in the Rainbow Trout.**  
*Capacchietti M., Agas D., Aiello D., Marchetti L., Materazzi S., Napoli A., Sabbiati M.G., Sindona G.*
- PR\_P70 **Caratterizzazione di *quantum dots* CdSe/ZnS mediante frazionamento in campo di flusso-flusso con rivelazione *multiangle laser scattering***  
*Rambaldi D.C., Zattoni A., Reschiglian P., Coto-García A.M., Costa-Fernandez J.M., Sanz-Medel A.*
- PR\_P71 **Studio della fibrillogenesi di peptidi  $\beta$ -amiloidi mediante frazionamento in campo di flusso-flusso con rivelazione *multiangle laser scattering***  
*Rambaldi D.C., Zattoni A., Reschiglian P., Colombo R., De Lorenzi E.*

- PR\_P72 **Quantificazione assoluta di proteine target mediante tecniche di spettrometria di massa MALDI-TOF e LC/ESI con triplo quadrupolo**  
*Cavaliere C., Corradini E., Samperi R., Laganà A.*
- PR\_P73 **Metodologia multidimensionale per l'identificazione su larga scala di fosfopeptidi**  
*Cucci F., Sacchetti P., Samperi R., Laganà A.*
- BA\_P74 **Presenza di antibiotici in omogeneizzati. Limiti di sensibilità**  
*Chiaromonte P., De Bernardis C., Festa M.R., Rampino V.*
- BA\_P75 **Studio di processi di marcatura di anticorpi con metalli per l'impiego in saggi immunoenzimatici con rivelazione ICP-MS**  
*Terenghi M., Elviri L., Careri M., Mangia A.*
- BA\_P76 **Dosaggio di amminoacidi indicanti fattori di rischio in pazienti uremici**  
*Chiaromonte P., De Bernardis C., Festa M.R., Rampino V.*
- BA\_P77 **Sviluppo di un nuovo biosensore, operante in solvente organico, per la determinazione dell'etanolo**  
*Campanella L., Spuri Capesciotti G., Gatta T., Tomassetti M.*
- BA\_P78 **A bioluminescent imaging based in vivo model for preclinical testing of potential drugs for Acute Myeloid Leukemia**  
*Mezzanotte L., Fazzina R., Michelini E., Pession A., Tonelli R., Roda A.*
- BA\_P79 **Monitoraggio non invasivo di terapie anticoagulanti orali**  
*Murgia L., Ghimenti S., Onor M., Paolicchi A., Di Francesco F.*
- BA\_P80 **Monitoraggio della degradazione del materiale cartaceo mediante biosensore al glucosio**  
*Micheli L., Radoi A., Barbante F., Moscone D., Palleschi G.*
- BA\_P81 **Determinazione colorimetrica di omocisteina mediante derivatizzazione con nanoparticelle di oro stabilizzate con polistirensolfonato di sodio**  
*Guerrieri A., Ciriello R., Fratantuono G.*
- BA\_P82 **Ottimizzazione dello screening ELISA per la determinazione di istamina nei prodotti della pesca**  
*Tavoloni T., Lestingi C., Piersanti A.*
- AM\_P83 **Surface Complexation Modelling di uranile su sedimenti fluviali**  
*Zambrotta M., Zelano V., Ginepro M., Berto S., Cavallero M.C.*

- AM\_P84 **Determinazione analitica di metalli nel PM<sub>10</sub> con tecnica ICP-MS e caratterizzazione di due siti della provincia di Trieste mediante PCA**  
*Cozzi F., Reisenhofer E., Barbieri P., Bovenzi M., Apostoli P., Adami G*
- AM\_P85 **Assorbimento cutaneo *in vitro* di polveri di cobalto, nichel e cromo attraverso cute umana integra e lesa**  
*Crosera M., Laresse F., D'Agostin F., Bovenzi M., Maina G., Reisenhofer E., Adami G.*
- AM\_P86 **Influenza del pH sulla fotodegradazione di pesticidi in sospensioni acquose di biossido di titanio**  
*Fanelli M., Ruggirei F., D'Archivio A., Mazzeo P., Fagiani A., Adinolfi Falcone R.*
- AM\_P87 **Metodi analitici per la determinazione di addotti stabili BaP<sub>(ox)</sub>-DNA**  
*Del Carlo M., Sergi M., Mascin M., Pepe A., Di Marcello M., Fragassi A., Kiss A., Compagnone D.*
- AM\_P88 **Metodologie GC per l'analisi del bio-olio ottenuto dalla pirolisi di biomassa vegetale**  
*Adamiano A., Fabbri D., Magnani A., Torri C.*
- AM\_P89 **Progettazione e validazione di un sistema di digestione UV ad alta efficienza per l'analisi di ioni metallici tramite tecniche voltammetriche**  
*Castelletti A., Monticelli D., Carugati G., Dossi C.*
- AM\_P90 **Reazioni di degradazione dell'erbicida tribenuron-metil per via idrolitica e fotoindotta**  
*Frascarolo P., Bottaro M., Gosetti F., Gianotti V., Mazzucco E., Gennaro M.C.*
- AM\_P91 **Determinazione per I.C. di acidi carbossilici a concentrazioni sub-ppb e applicazione a campioni di aerosol raccolti in aree antropizzate e remote.**  
*Cerri O., Becagli S., Manganelli D., Moranti A., Severi M., Traversi R., Udisti R.*
- AM\_P92 **Applicazione di metodologie statistiche per l'analisi delle periodicità in serie temporali di marker chimici in carote di ghiaccio**  
*Becagli S., Castellano E., Severi M., Rugi F., Traversi R., Udisti R.*
- AM\_P93 **Sistemi biologici per la rimozione e la separazione delle specie del cromo**  
*Campanella L., Dragone R., Ermilov L., Lelo D.*
- AM\_P94 **Determinazione di selezionati metalli in filtri di aerosol urbano per ICP-OES dopo mineralizzazione con HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**  
*Castellano E., Rugi F., Severi M., Nava S., Chiari M., Lucarelli F., Udisti R.*

- AM\_P95 **Tecniche PIXE e PIGE per l'analisi di campioni di aerosol in ghiaccio Antartico e sedimenti continentali raccolti nelle aree sorgenti nell'Emisfero Australe**  
*Marino F., Castellano E., Nava S., Chiari M., Rugi F., Lucarelli F., Udisti R.*
- AM\_P96 **Applicazione di un metodo termo-ottico per la determinazione di TC, EC, OC in campioni di aerosol raccolti nel Parco di San Rossore (Pisa)**  
*Traversi R., Becagli S., Chiari M., Lucarelli F., Marino F., Nava S., Udisti R.*
- AM\_P97 **Abbattimento dell'interferenza di ioni metallici e di acidi carbossilici, nell'analisi di pesticidi mediante biosensore ad inibizione, operando in solvente organico**  
*Campanella L., Ielo D., Martini E., Tomassetti M.*
- AM\_P98 **Rifiuti industriali e qualità delle acque di falda. Il caso dell'acquedotto Chieti - Pescara**  
*Costa P., Croce F., Insogna S., Zoccolillo L.*
- AM\_P99 **Idrocarburi clorurati volatili nell'ambiente. Determinazione e valutazione del rapporto di concentrazione atmosfera / ambiente acquatico tra zone temperate e Antartide**  
*Amendola L., Insogna S., Zoccolillo L.*
- AM\_P100 **Dissoluzioni selettive sequenziali per la determinazione di composti inorganici di tallio nel particolato atmosferico e nell'aria degli ambienti di lavoro**  
*Sturini M., Profumo A., Maraschi F., Cucca L., Spini G.*
- AM\_P101 **L'impiego di materiali di scarto per rimuovere 2,4,6-tricloroanilina da reflui**  
*Benzi M., Frascarolo P., Gianotti V., Gosetti F., Bottaro M., Mazzucco E., Gennaro M.C.*
- AM\_P102 **Studi di idrolisi e di fotodegradazione di 4-cloroanilina**  
*Bottaro M., Gosetti F., Gianotti V., Mazzucco E., Frascarolo P., Gennaro M.C.*
- AM\_P103 **Levoglucosan nell'aerosol urbano in Italia**  
*Zangrando R., Gambaro A., Bolzacchini E., Perrone M.G., Cescon P.*
- EQ\_P104 **A study on the acid-base properties of pectin and poly-galacturonic acid**  
*Cataldo S., Gianguzza A., Pettignano A., Piazzese D., Sammartano S.*
- EQ\_P105 **Progetto per la validazione del grado di complessazione dei metalli in acque ambientali**  
*Alberti G., Pesavento M., Biesuz R., Ponticelli D., Dossi C.*

- EQ\_P106 **Studio della complessazione tra ioni  $Mg^{2+}$  e monoidrogenosalicilato**  
*Cimino R., Furia E., Porto R.*
- EQ\_P107 **Solubilità, Proprietà Acido-Base e Coefficienti di Attività del Chitosano in soluzione acquosa a 298.15 K**  
*Crea F., Gianguzza A., Piazzese D., Sammartano S.*
- EQ\_P108 **La tecnica AGNES per la determinazione dello zinco in acque di fiume. Validazione del metodo.**  
*Zavarise F., Companys E., Galceran J., Alberti G, Profumo A.*
- EQ\_P109 **Capacità sequestranti dello ione fitato nei confronti dei lantanidi**  
*Crea F, Crea P., De Stefano C., Milea D., Sammartano S.*
- EQ\_P110 **Capacità sequestranti di differenti classi di leganti nei confronti del Dimetilstagno(IV)**  
*Casale A., Crea F., De Stefano C., Manfredi G., Milea D., Sammartano S.*
- EQ\_P111 **Interazione tra benzene-1,2,3,4,5,6-esacarbossilato e poliammine protonate**  
*Bruno G., De Robertis A., Giuffrè O., Sammartano S.*
- EQ\_P112 **Analisi critica dei parametri termodinamici del sistema acido fitico/Cadmio(II) determinati con differenti tecniche elettrochimiche**  
*De Stefano C., Lando G., Milea D., Pettinano A., Sammartano S.*
- EQ\_P113 **Complex species formation of Cu and Cd metal ions with polyacrylate, polymethacrylate and alginate ligands. Potentiometric investigation by ISE  $H^+$  and ISE- $Me^{2+}$  electrodes**  
*Gianguzza A., Pettinano A., Sammartano S., Sciarrino S.*
- EQ\_P114 **Comportamento di sali sodici degli acidi biliari con lo ione calcio**  
*Antonilli M., Bottari E., Festa M.R., Gentile L.*
- EQ\_P115 **Arginina come legante di cationi**  
*Antonilli M., Bottari E., Festa M.R., Gentile L.*
- EA\_P116 **Determinazione rapida di aldeidi leggere in alimenti mediante elettroforesi capillare su microchip con rivelazione amperometrica**  
*Dossi N., Susmel S., Toniolo R., Pizzariello A., Bontempelli G.*
- EA\_P117 **Voltammetric determination of platinum in leaves of *Nerium Oleander L.*; Preliminary data on assessment of air quality in the Palermo (Italy) area**  
*Amorello D., Coniglio O., Orecchio S., Romano V.*

- EA\_P118 **Sviluppo e ottimizzazione di una nuova metodica per l'analisi di platino in presenza di stagno mediante voltammetria di stripping anodico**  
*Giussani B., Roncoroni S., Recchia S., Dossi C.*
- EA\_P119 **Determinazione di mercurio e metalli pesanti in specie acquatiche**  
*Melucci D., Alessandri M., Locatelli C.*
- EA\_P120 **Elettrodi stampati modificati con nanoparticelle d'oro per la determinazione di Hg (II)**  
*De Vettori S., Capodaglio G., Cescon P.*

**Legenda:**

**AL:** Alimenti

**AM:** Ambiente

**BA:** Bioanalitica

**BC:** Beni Culturali

**CH:** Chemiometria

**EA:** Elettronanalitica

**EQ:** Equilibri in soluzione

**PR:** Proteomica

**SA:** Spettroscopia Analitica

**SE:** Sensori

**TC:** Tecniche Combinate

**TS:** Tecniche Separative





## **Conferenze Plenarie**



PL\_1

# Molecular Profiling and Imaging of Tissues by Mass Spectrometry: Assessing Spatial and Temporal Proteomics

*Richard Caprioli*

Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN USA

The spatial and temporal aspects of molecular processes in cells and tissues play an enormous part in the biology that defines living systems. Profiling and Imaging MALDI MS provides an effective means to measure and assess those dimensions on a molecular basis, including peptides, proteins, lipids, metabolite as well as others. The technology is extraordinarily high throughput with high molecular specificity and is an excellent discovery tool. It provides the capability of mapping the location of specific molecules such as drugs, lipids, peptides and proteins directly from fresh frozen tissue sections. For example, utilization of this technology provides spatial information across a tissue section for a target protein expression or for a signature of multiple proteins and can be used to correlate changes in expression levels with specific disease states or drug response. Protein patterns can be directly correlated to known histological regions within the tissue, allowing for the direct monitoring of proteins specific to these regions within a tissue sample. Profiling and imaging MS have been used to characterize many tissue types, including human gliomas and lung cancers, as well as tumor response to specific therapeutics, suggesting the use of proteomic information in assessing disease progression as well as predicting patient response to specific treatments.

Frozen tissues specimens are sectioned (~10  $\mu\text{m}$  thick), thaw-mounted on flat metallic target plates, and matrix automatically deposited. This can be done in a histology-directed manner to bring into play the expertise and experience of pathologists to obtain molecular profiles from discrete areas of tissue. This represents a profiling approach where only specific areas of interest are being interrogated. In the imaging mode, high density laser ablation of an ordered array of spots over the entire tissue gives rise to a 2-dimensional ion density map (or image) with 30-80  $\mu\text{m}$  lateral resolution in which location and relative abundance of a given analyte is displayed. From the analysis of a single section, images at virtually any molecular weight may be obtained.

This presentation will discuss both the technology and methods involved in analyzing molecules directly from tissue samples, including examples of discovery in mouse developmental models and the profiling of human tumors, characterizing protein differences between tumor grades, and monitoring protein changes due to drug therapy. We have applied this technology for the creation of 3-D protein images of substructures of mouse brain, to drug targeting and metabolic studies and the measurement of concomitant protein changes in specific tissues after systemic drug administration. Finally, we explore the correlation of lipid and protein changes in several systems in both health and disease.

# New Analytical Possibilities of Imaging Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) in Brain Research

*J. Sa. Becker, M. Zoriy, B. Wu, D. Salber, C. Palm, J. Su. Becker \**

Research Center Jülich, D-52425 Jülich, Germany

\* Varian Ltd, Yarnton, U.K.

In recent years, there has been a growing interest in studying elemental distribution in biological and especially in clinical tissues [1]. Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) was developed to produce images of the detailed regionally specific element distribution in 10 to 30  $\mu\text{m}$  thin sections of different parts of the biological tissues [2-4]. LA-ICP-MS enables images to be produced of the distribution of essential metals such as Zn, Cu, Fe and Mn as well as of toxic and also radioactive metals (e.g., Hg, Pb, Cd, Th, U) in thin tissue sections with a spatial resolution in the  $\mu\text{m}$  range. The quantitative determination of metal distribution in thin slices of biological samples was performed using matrix-matched laboratory standards via an external calibration procedure. In addition, a solution-based calibration procedure using a micronebulizer which was inserted directly into the laser ablation chamber was applied to validate the analytical data. Images of the metals but also of non-metals P, C, Cl or S were obtained on thin sections of human or rat brain tissues by LA-ICP-MS using a quadrupole-based and sector field mass spectrometers. For example, the growth of tumor tissue via the element distribution and the change of water content were investigated by imaging LA-ICP-MS whereby a depletion of P, S and Fe was detected in tumor tissues. [5] LA-ICP-MS, as a powerful and sensitive microanalytical technique, provides new information on the spatially inhomogeneous element density distribution in thin sections of brain tissues, e.g., of different brain regions (hippocampus and cortex) or brain tumor tissues [2-5]. The detection limits of metals obtained by imaging LA-ICP-MS (e.g., for Cu, Fe, Zn, Pb, U and others) were in the  $\mu\text{g g}^{-1}$  range and below. Besides the quantitative imaging of essential and toxic elements in tissues, powerful techniques are also required for the determination and characterization of metal-containing proteins within a large pool of proteins, e.g. after electrophoretic separation (Blue Native and SDS PAGE) in one-dimensional and two-dimensional gels. LA-ICP-MS was developed to analyze metalloproteins and phosphoproteins in protein bands or spots separated by one- and two-dimensional gel electrophoresis [6]. In addition to elemental detection by LA-ICP-MS, MALDI-MS was applied to identify metal-containing proteins. In future studies, the possibility of nanometer scale analysis of elements on sample surfaces using near-field LA-ICP-MS (NF-LA-ICP-MS) [7] will open up a challenging new path for future applications in the life sciences, biology and medicine.

1. J.S. Becker *Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Application*; J. Wiley and Sons: Chichester, 2007.
2. J.S. Becker, M. Zoriy, J.Su. Becker, J. Dobrowolska, A. Matusch, *J. Anal. At. Spectrom.* 22 (2007) 736.
3. J.S. Becker, M. Zoriy, C.Pickhardt, N. Palomero, K. Zilles, *Anal. Chem.* 77 (2005) 3208.
4. M. Zoriy, M. Dehnhardt, G. Reifenberger, K. Zilles, J.S. Becker, *Int. J. Mass Spectrom.* 257 (2006) 27.
5. J.S. Becker, M. V. Zoriy, M. Dehnhardt, C. Pickhardt, K. Zilles, *J. Anal. At. Spectrom.* 20 (2005) 912.
6. J. Su. Becker, M. Zoriy, M. Przybylski, J.S. Becker, *J. Anal. At. Spectrom.*, 22, 63 (2007).
7. M. Zoriy, M. Kayser, J.S. Becker, *Int. J. Mass Spectrom.* 273 (2008) 151.

PL\_3

# Chip-based analytical methods for analytical chemistry

*Andreas Manz*

Sensory Design and Technology Ltd., St John's Innovation Centre, Cowley Road, Cambridge CB4 OWS, United Kingdom

Microfluidic chips have been developed and applied to various fields. Particularly, fast separations and chemical reactions for use in analytical chemistry context have been of interest [1]. Scaling laws predict a higher mass and heat transport for smaller dimensions. However, there is a trade-off between internal volumes and detection limits. For biology, the situation is not changing that much. However, due to the similarity of length scale of biological cells and channels on chip, new tools for the biologists may arise. Key applications include drug discovery [2], systems biology and regenerative medicine research. In this presentation, I will briefly review scaling laws, show examples of microfluidic chips for electrophoresis, elaborate on work-in-progress with cell differentiation and give an example how mishaps turn out to be quite interesting

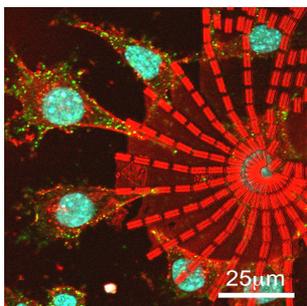


Figure 1. patterned surface for cell adhesion and cell differentiation



Figure 2. magnetic carriers for cell cultures and cell differentiation experiments



Figure 3. vesicle tubes manufactured on a silicon / PDMS chip

[1] D.Janasek, J.Franzke, A.Manz, Nature 442, 374-380 (2006); J.West, M.Becker, S.Tombrink, A.Manz, Anal. Chem. 80, 4403-4419 (2008)

[2] P.S.Dittrich, A.Manz, Nature Reviews Drug Discovery, 5, 210-218 (2006)



**Simposio  
Etica e Ambiente**



# Etica ed Ambiente: un'opportunità per la Chimica

*Francesco Dondi*

Dipartimento di Chimica, Via Luigi Borsari, 46, 44100 Ferrara, email f.dondi@unife.it

Il chimico e le sue attività vivono in un contesto globale e significativa è la presa di coscienza di come l'insieme combinato della tecnica e dell'economia abbiano moltiplicato l'incidenza delle attività tecniche sulla stabilità e l'esistenza stessa della vita sulla terra .

La riflessione filosofica ha illustrato come i concetti tradizionali di etica non siano più sufficienti a guidare i comportamenti individuali e collettivi, ma si debba tenere in considerazione gli aspetti tecnico-scientifici nel giudizio etico [1]. In particolare il Prof. R. Ernst, Nobel della Chimica, 1991, ha di recente indicato le nuove responsabilità nell'educazione e nella gestione delle università da parte degli insegnanti universitari [2].

Molte sono le iniziative che coinvolgono il chimico in questa presa di coscienza nel nostro paese. Ricordiamo in particolare la recente proposta di carta dei principi etici messa a punto dalla Società Chimica Italiana [3] o, ad esempio, il convegno Forum on Ethics and Science for the Environment, Ferrara 23-25 Settembre 2007, in cui si è affermata la necessità di impartire principi educativi etici nell'ambito della Facoltà di Scienze [4].

In questa comunicazione si affrontano le problematiche relative all'insegnamento degli aspetti etici "per chimici" attraverso un percorso che possa essere compreso e tradotto in termini "chimici", sottolineando le grandi opportunità che possono derivare al chimico, ed in particolare al chimico analitico, da una sistematica presa di coscienza del contesto etico dei problemi chimici. Viene affrontato il rapporto tra Scienza e Politica, focalizzando gli specifici ambiti di responsabilità [5].

1. H. Jonas, *il Principio di Responsabilità*, Einaudi, 1994
2. R. Ernst , *La Chimica e l'Industria*, Settembre 2007, p. 154, Novembre 2007, p. 116
3. [http://www.soc.chim.it/it/documenti/carta\\_dei\\_principi](http://www.soc.chim.it/it/documenti/carta_dei_principi)
4. <http://ethic-forum.unife.it/>
5. D. Sarewitz, *Environmental Science and Politics*, 7, 2004, 385-403



## **Comunicazioni Orali**



OAL\_1

## Applicazione di analisi Multi-way in un contesto agro-alimentare

*C. Durante, M. Cocchi, S. Manzini, A. Marchetti, M. Grandi, M. Li Vigni,  
S. Sighinolfi, S. Totano, L. Tassi*

Dipartimento di Chimica, Università di Modena e Reggio Emilia, Via Campi 183,  
41100 Modena, Italy, [cdurante@unimore.it](mailto:cdurante@unimore.it).

L'utilizzo dell'analisi multi-way [1] ha assunto negli ultimi anni un ruolo sempre più importante nel campo della ricerca alimentare [2-3] e non [4], grazie soprattutto all'abilità di queste tecniche di estrarre informazioni utili da matrici di dati complesse, costituite da variabili sia strumentali che puntuali e caratterizzate da più di due fonti di variabilità.

Particolarmente utili ed interessanti risultano le applicazioni di tali tecniche in un contesto di autenticità e tracciabilità di prodotti alimentari [1], in cui di frequente si richiede l'analisi di complessi dati strumentali, spesso ottenuti da tecniche analitiche ifenate, per verificare la qualità e/o la provenienza geografica di un alimento.

In questa relazione, verranno presentati esempi di applicazione delle tecniche di analisi multi-way a studi inerenti il controllo di qualità di prodotti alimentari (analisi sensoriale, studio del processo di invecchiamento e discriminazione di campioni di Aceto Balsamico Tradizionale di Modena) e a problematiche in ambito agroalimentare (biodisponibilità di elementi nel terreno).

- 1) A. Smilde, R. Bro, P. Geladi, Multi-way Analysis. Applications in the chemical sciences. *Wiley Editor*.
- 2) L. Munck, L. Norgaard, S.B. Engelsen, R. Bro, C.A. Andersson. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1998**, *44*, 31-60.
- 3) C. Durante, R. Bro, M. Cocchi, M. Grandi, A. Marchetti, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2006**, *83*, 54-65
- 4) J.A. Westerhuis, S.P. Gurden, A.K. Smilde, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2000**, *51*, 95-114

OAL\_2

## **Studi preliminari di tracciabilità e autenticazione in filiere alimentari mediante determinazione dei lantanidi con ICP-MS**

*M. Oddone, E. Robotti, E. Marengo, M. Baldizzone, M. Aceto*

Dipartimento di Scienze dell’Ambiente e della Vita, Università del Piemonte Orientale, via Bellini, 25/G –  
Alessandria

La tracciabilità di prodotti agroalimentari sta assumendo rilevanza sempre maggiore per l'economia europea, in ragione della pressione che i consumatori esercitano per conoscere sempre meglio non solo il valore nutritivo dei cibi ma anche la loro provenienza e autenticità. Da una tracciabilità fatta principalmente di documentazione si cerca pertanto di passare alla tracciabilità “scientifica” degli alimenti. Questo lavoro si inserisce in tale contesto con lo scopo di definire, attraverso le tecniche analitiche che fanno uso di Spettrometria di massa con plasma induttivamente accoppiato (ICP/MS), una “impronta digitale” degli alimenti. Si cerca di mettere a punto una metodica di analisi efficace e veloce in grado di legare il profilo elementare del terreno con il profilo elementare degli alimenti. Si è posta attenzione sullo studio di distribuzione degli elementi appartenenti al gruppo dei lantanidi o “terre rare” (Rare Earth Elements, REE). proprio perché, in ragione della loro grande similarità chimica, essi offrono la possibilità di evitare il problema dei frazionamenti selettivi nella distribuzione di concentrazione dal terreno all’alimento. Pur in concentrazioni ragionevolmente basse (a livello di  $\mu\text{g/l}$  o  $\text{ng/l}$ ), questi elementi possano essere significativamente rintracciabili anche negli alimenti. Per questo lavoro sono stati presi in considerazione alimenti che garantiscono qualità, tipicità e tradizione del territorio di origine. Sono stati trattati campioni di filiera di vino, tartufi, funghi, nocciole, miele. Per studiare la tracciabilità dei vini, è stato necessario disporre di campioni che non subissero, in fase di lavorazione, tagli o assemblaggi in modo tale che le concentrazioni degli oligoelementi ricercati dipendessero soltanto, o almeno principalmente, dalla composizione del terreno della regione di coltura. In questo senso sono stati acquisiti campioni di vini monovitigno, ovvero vinificati in purezza. I risultati ottenuti attraverso le analisi condotte sui campioni appartenenti a quattro differenti filiere verificano, almeno in parte, le ipotesi di partenza. È stato, infatti, possibile affermare che, mentre il contenuto dei lantanidi diminuisce nei vari passaggi, la loro distribuzione rimane costante dal terreno fino al mosto e sembra esserci differenza da filiera a filiera. Per quanto riguarda il passaggio dai mosti ai vini corrispondenti, si verifica una forte incertezza nella stima della distribuzione dei suddetti traccianti, sicuramente collegabile alle bassissime concentrazioni di alcuni lantanidi presenti nei vini, in particolare quelli a maggior peso atomico, e ciò non consente una trattazione statistica robusta dei dati in nostro possesso. Ancora più complesso è il legame tra il terreno e il miele, in cui si nota come la distribuzione dei lantanidi non si rifletta nel prodotto finale della filiera, cioè il miele. In questo caso subentrano alcuni fattori fuori controllo, come l’areale su cui insistono le api e le specie vegetali bottinate. Per questo motivo nel caso del miele la distribuzione dei microelementi permette di verificare l’autenticazione del prodotto ma non la sua tracciabilità. Discorsi differenti per quanto riguarda la relazione terreno-tartufi, terreno-funghi, terreno-nocciole. Laddove non esistono intermedi di lavorazione è stato possibile individuare differenze di distribuzione delle REE legate alle diverse zone di origine o coltivazione e quindi utilizzare queste variabili sia per la tracciabilità che per l’autenticazione degli alimenti citati. In conclusione, per tutti gli alimenti oggetto della presente ricerca sono allo studio schemi di autenticazione e tracciabilità basati su produzioni a scala locale, regionale o nazionale.

OAL\_3

## La distribuzione elementare come parametro per l'identificazione dell'origine del pomodoro

G. Lo Feudo,\* B. Macchione,<sup>†</sup> A. Naccarato,<sup>†</sup> G. Sindona,<sup>†</sup> A. Tagarelli<sup>†</sup>

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica, Università della Calabria Via P. Bucci, Cubo 12/C 87036 Arcavacata di Rende (CS)

\* I.N.C.A. Istituto Nazionale delle Conserve Alimentari – Sede di Cosenza, Via N. Parisio, 13 – 87100 Cosenza

Nell'ambito della problematica riguardante il riconoscimento dell'origine di determinate matrici alimentari, assume particolare importanza poter riconoscere la provenienza dei prodotti con metodi oggettivi al fine di scongiurare sofisticazioni e falsificazioni che potrebbero comportare una perdita di genuinità e qualità dell'alimento stesso a discapito del consumatore. In questa ottica, molti studi<sup>1</sup> sono stati condotti allo scopo di sviluppare protocolli per la determinazione, mediante tecniche strumentali, di componenti caratterizzanti l'origine.

Tra i parametri che caratterizzano una determinata matrice alimentare può essere sicuramente annoverata la distribuzione degli elementi. Molti lavori hanno infatti dimostrato come questa vari in funzione della zona di coltivazione delle piante. In particolare, per il pomodoro la distribuzione delle terre rare è stata investigata da Bettinelli et al. nel terreno di coltivazione e nelle diverse parti della pianta.<sup>2</sup>

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la possibilità di utilizzare la composizione multielementare come parametro indicante l'origine geografica del pomodoro. Nello specifico, la determinazione multielementare, eseguita tramite ICP/MS, è stata condotta su pomodori, concentrati provenienti da Calabria, Basilicata, Puglia ed Emilia Romagna.

L'approccio statistico per il trattamento dei dati è stata l'analisi discriminante lineare (LDA) che permette di classificare campioni incogniti dopo aver verificato l'eventuale differenziazione tra i campioni a provenienza nota. Dai risultati preliminari si evince chiaramente come la distribuzione multielementare possa permettere di raggiungere l'obiettivo dell'identificazione dell'origine del pomodoro. Il modello statistico costruito, infatti, consente una netta differenziazione dei campioni di pomodoro provenienti anche da aree geografiche vicine tra loro. Sviluppi futuri in tale settore di indagine potrebbero portare ad un'estensione del modello su scala europea e mondiale.

<sup>1</sup> C. Benincasa, A. De Nino, N. Lombardo, E. Perri, G. Sindona, A. Tagarelli *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 733-741; C. Benincasa, J. Lewis, E. Perri, G. Sindona, A. Tagarelli, *Anal. Chim. Acta* **2007**, *585*, 366-370; B. Cavaliere, A. De Nino, F. Hayet, A. Lazez, B. Macchione, C. Moncef, E. Perri, G. Sindona, A. Tagarelli *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 1454-1462.

<sup>2</sup> M. Bettinelli, S. Spezia, C. Baffi, G.M. Beone, R. Rocchetta, A. Nassisi *At. Spectrosc.* **2005**, *26*, 41-50.

OAL\_4

## Determinazione della qualità e della genuinità di oli extra-vergini di oliva mediante misure spettroscopiche ed elettrochimiche in matrice

*M. Del Carlo,\* A. Cichelli,† L. Cerretani,§ G. Lercker,§ D. Compagnone\**

\*Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Teramo Via Lerici 1, Mosciano Stazione

†DASTA, Università di Pescara, Viale Pindaro 42, Pescara

§Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Bologna, P.zza Goidanich, 60, Cesena

Una delle principali caratteristiche della composizione dell'olio di oliva è la presenza di un elevato contenuto di acido oleico (60-80% degli acidi grassi totali, 90% degli acidi grassi monoinsaturi (MUFA)). Gli acidi grassi poli-insaturi (PUFA), in particolare l'acido linoleico e l'acido linolenico, rappresentano il 5-8% degli acidi grassi totali. I MUFA e i PUFA liberi possono andare incontro a reazioni di perossidazione determinando un aumento dell'indice di perossidi (PV). Nell'olio extra-vergine di oliva (EVOO) sono presenti anche sostanze ad azione antiossidante sia apolari, principalmente  $\alpha$ -tocoferolo, che polari, principalmente composti fenolici, che conferiscono stabilità e importanti caratteristiche nutrizionali e sensoriali. I metodi di analisi comunemente utilizzati per la determinazione degli acidi grassi, dei polifenoli e dei tocoferoli richiedono un esteso trattamento del campione che comprende di volta in volta o l'aggiunta di reagenti o l'estrazione dei composti da analizzare. Tali procedure rendono questi metodi difficilmente utilizzabili presso gli impianti di produzione in modalità "at-line". In questa comunicazione saranno presentati due metodi per la misura diretta degli analiti in matrice e che

per tanto risultano rapidi e semplici da usare. Il primo approccio è basato sulla spettroscopia IR, combinata con trattamento chemiometrico del dato attraverso Partial Least Squares Analysis (PLS), per la determinazione simultanea del PV, acido oleico (OA), acido linoleico (LA), acidi grassi saturi (SFA), MUFA e PUFA. Il secondo metodo proposto è basato sulla voltammetria differenziale a impulsi (DPV), anche in questo caso combinata con PLS per la determinazione simultanea di  $\alpha$ -

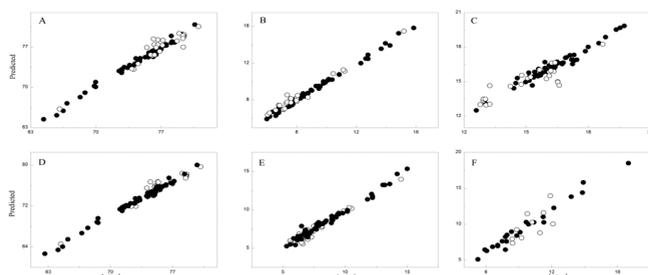


Figura 1: c GC-FID vs FTIR-PLS calibrazione (•) e validazione (○) per (A) MUFA, (B) PUFA, (C) SFA, (D) OA e (E) LA. (F) PV (meq Kg<sup>-1</sup>, titolazione) vs FTIR-PLS.

tocoferolo, tirosolo e composti derivati, idrossitirosolo e composti derivati. Per entrambi i metodi, e per tutti gli analiti e i parametri determinati, sono stati creati dei modelli di calibrazione testati poi con un set di campioni di validazione esterna ottenendo recuperi intorno al 100% (Figura 1) con un errore paragonabile a quello dei metodi ufficiali.

OAL\_5

# **Applicazione di tecniche SPME e GCMS per la caratterizzazione della frazione volatile di vini Brachetto d'Acqui ed analisi statistica multivariata su variabili chimiche e parametri organolettici.**

*M. Baldizzone, M. Oddone, L. Deagostini, E. Robotti, E. Marengo, M. Aceto*

Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita, Università del Piemonte Orientale, via Bellini 25/G – 15100 Alessandria

Il Brachetto d'Acqui DOCG rientra tra i grandi aromatici italiani, prodotto da uve Brachetto sulle colline dell'Alto Monferrato nella zona compresa tra le province di Asti e Alessandria. Di colore rosso rubino, è un vino leggero con sentori di rosa, fragola, geranio e sapori di uve fresche e fragole selvatiche. La caratterizzazione della frazione volatile fornisce, attraverso l'utilizzo di tecniche chemiometriche, la possibilità di ottenere informazioni sul ruolo di molecole o categorie di composti organici nella caratterizzazione del cultivar, sulla qualità del vino e su possibili composti traccianti in grado di garantire autenticità e tipicità del prodotto.

L'ottimizzazione delle condizioni per la microestrazione in fase solida ha permesso di determinare e caratterizzare un numero significativo di analiti sensorialmente importanti tra cui terpeni, esteri, alcoli, aldeidi, chetoni, eteri ed ossidi spesso non classificabili in SPE. È stato verificato il comportamento di fibre differenti effettuando prove di recupero con lo studio di parametri quali temperatura, velocità e tempi di estrazione, selezionando infine per la caratterizzazione la fibra 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/Carboxen/PDMS StableFlex. Gli analiti sensorialmente significativi sono stati calibrati a gruppi di quattro in opportune concentrazioni mediante il metodo delle aggiunte standard sviluppando un apposito metodo in SIS per quelli meno rivelabili, allo scopo di non alterare la matrice e gli equilibri sulla fibra e garantire linearità e robustezza per il modello di calibrazione negli intervalli di concentrazione selezionati.

I risultati mostrano per la tecnica SPME alcuni vantaggi specifici: innanzitutto i ridotti tempi di trattamento e l'elevata sensibilità, anche a concentrazione inferiore al  $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ , verso un ampio range di analiti che, seppur inferiore in numero rispetto alla classica estrazione in SPE, permette la caratterizzazione completa della frazione volatile e semivolatile. La standardizzazione delle condizioni di estrazione ha permesso di ottenere ripetibilità del metodo con coefficiente di variazione percentuale per gli analiti calibrati inferiore al 5%. Successivamente, considerato un set statisticamente significativo di vini Brachetto d'Acqui abbinati ad un concorso enologico, è stato effettuato un panel test composto da assaggiatori esperti che ha fornito un profilo sensoriale dei campioni sotto forma di variabili organolettiche espresse in termini numerici. Le informazioni sugli analiti identificati mediante le tecniche analitiche ottimizzate e i giudizi sulle variabili organolettiche sono state elaborate tramite metodi chemiometrici PCA e PLS2, verificando le correlazioni tra le variabili chimiche determinate e i giudizi assegnati dagli assaggiatori. L'analisi chemiometrica ha consentito di comprendere come i composti aromatici presenti nel Brachetto d'Acqui influenzino, in positivo ed in negativo, le qualità organolettiche del vino preso in considerazione.

I risultati potrebbero essere utilizzati in fase di selezione clonale, isolando le specie aventi caratteristiche migliori sotto il profilo aromatico, in fase di coltivazione concentrando l'attenzione sulla massimizzazione delle variabili chimiche che più di altre condizionano il giudizio e, infine, per controllare l'autenticità dei prodotti commerciali da frodi e contraffazioni.

OAL\_6

## Determinazione di diesteri e monoesteri dell'acido ftalico in campioni di latte umano e di formulati per l'infanzia

*M. Del Bubba*<sup>\*</sup>, *P. Galvan*<sup>†</sup>, *L. Lamperi*<sup>\*</sup>, *D. Fibbi*<sup>\*</sup>, *A. Cincinelli*<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica – Università degli Studi di Firenze, Via della Lastruccia 3, 50019 Sesto Fiorentino (FI) E mail: delbubba@unifi.it

<sup>†</sup> Dipartimento di Pediatria – Università degli Studi di Firenze, Viale Pieraccini 24, 50139 Firenze

I diesteri dell'acido 1,2-ftalico, comunemente noti come ftalati, sono tra i composti chimici industriali più largamente prodotti a livello mondiale, con una produzione annua di circa 4 milioni di tonnellate. Vengono principalmente usati come plasticizzanti nella produzione del PVC (anche per uso alimentare) e di altri polimeri, ma trovano largo impiego anche nella formulazione di prodotti per la cura della persona e di presidi medici. In conseguenza del loro ampio utilizzo, essi sono stati ritrovati nei vari comparti ambientali sia in zone industrializzate, sia in aree remote (Antartide) [1-4]. A causa dell'ubiquitarità degli ftalati e della loro presenza in moltissimi prodotti di uso comune, l'uomo è fortemente esposto alla contaminazione da parte di questi composti. Il primo stadio del loro cammino metabolico è costituito da una rapida idrolisi nei corrispondenti monoesteri. Sebbene non sia ancora del tutto chiaro quali molecole, fra i precursori e i loro metaboliti, siano più tossici per l'uomo, diversi ftalati risultano cancerogeni [5] e distruttori del sistema endocrino [6]. Per questo motivo, la determinazione contemporanea dei diesteri e monoesteri dell'acido ftalico risulta di fondamentale importanza per la valutazione degli effetti tossici sull'uomo. In questo quadro si inserisce il presente lavoro che si occupa della messa a punto di un metodo analitico per la determinazione di sei ftalati e dei corrispondenti monoesteri nel latte umano e nei formulati per l'infanzia, allo scopo di valutare l'impatto di questi composti sull'uomo nella sua prima fase di crescita.

Il metodo proposto prevede un'estrazione di 10 g di campione, precedentemente addizionato di 1.25 ml di acido fosforico 1M, con una miscela  $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NaCl}$  0.7% 2/1/0.5 (v/v/v) seguita da una doppia estrazione con  $\text{CHCl}_3$ . Per la separazione degli ftalati dalla frazione grassa è stato messo a punto un metodo cromatografico di esclusione dimensionale, basato sull'utilizzo della resina Bio-Beads S-X3 e del cicloesano come solvente di rigonfiamento ed eluizione. La determinazione degli analiti è effettuata tramite GC/MS in modalità FAST. Il recupero e la precisione del metodo risultano rispettivamente compresi negli intervalli 57-80% e 9-15%. I limiti di quantificazione variano da alcune decine di ng/kg fino a 2 ppb, in dipendenza del contributo del bianco.

Il metodo, applicato a 9 campioni di latte umano e a 4 formulati per l'infanzia, ha evidenziato una significativa presenza di diesteri e loro metaboliti in entrambi i tipi di campione, indicando un problema di esposizione della popolazione a questa classe di inquinanti.

- 1) Xie, Z.; Selzer, J.; Ebinghaus, R.; Caba, A.; Ruck, W. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *565*, 198-207.
- 2) Gibson, R.; Wang, M.J.; Padgett, E.; Beck, A.J. *Chemosphere* **2005**, *61*, 1336-1344.
- 3) Peijnenburg, W.J.; Struijs, J. *Ecotoxicol Environ Saf.* **2006**, *63*, 204-215.
- 4) Del Bubba, M.; Cincinelli, A.; Checchini, L.; Lepri, L.; Desideri, P. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **2004**, *84*, 441-456.
- 5) Yano, K.; Hirose, N.; Sakamoto, Y.; Katayama, H.; Moriguchi, T.; Asaoka, K. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **2005**, *74*, 373-379. Colon, I.; Caro, D.; Bourdony, C.J.; Rosario, O. *Environ. Health Perspect.* **2000**, *108*, 895

OAL\_7

## Determinazione di aflatossine in campioni di cereali mediante SPME-HPLC e derivatizzazione fotochimica on-line post-colonna.

*M. Quinto, G. Spadaccino, C. Palermo, D. Centonze, T. Rotunno*

DiSACD – Università di Foggia – via Napoli 25 – 71100 Foggia – Italy

Le aflatossine sono metaboliti secondari di muffe tossigene del genere *Aspergillus*, ed in particolare *A. flavus*, *A. parasiticus* ed *A. nomius*. Esse sono riconducibili a 5 molecole principali, ritrovate ed identificate negli alimenti: B1, B2, G1, G2 ed M1. Il grande interesse della comunità scientifica per questo tipo di composti, testimoniato dai numerosi studi e dalle pubblicazioni sull'argomento, è dovuto al fatto che sono da tempo stati accertati i loro effetti carcinogenici, mutageni ed immunosoppressivi su molte specie animali. La Commissione Europea ha fissato il limite massimo di concentrazione per l'aflatossina B1 a  $2 \text{ ng g}^{-1}$  e per le aflatossine totali a  $4 \text{ ng g}^{-1}$  nei cereali destinati al consumo umano<sup>1</sup>. Le metodiche analitiche classiche per l'analisi delle micotossine prevedono una estrazione mediante una miscela di MeOH/H<sub>2</sub>O ed una purificazione per mezzo di colonnine a fase solida (SPE) o ad immunoaffinità<sup>2,3</sup>. L'utilizzo di queste ultime ha aumentato notevolmente la sensibilità dei metodi analitici di determinazione delle aflatossine; tuttavia, tale procedura richiede tempi lunghi, l'uso di sostanze potenzialmente dannose per gli operatori e per l'ambiente, e costi elevati a causa della non riutilizzabilità delle colonnine. Alla luce di queste considerazioni, appare oggi molto importante la ricerca di nuovi metodi che permettano l'estrazione e la purificazione di tali analiti in tempi più brevi, costi ridotti e basso (o nullo) utilizzo di solventi. La microestrazione in fase solida (SPME) è una tecnica innovativa che ha permesso in molti casi di risolvere questi problemi permettendo l'estrazione e la purificazione degli analiti da matrici anche complesse, in un'unica fase e senza l'ausilio di solventi organici. Questo tipo di tecnica è solitamente accoppiata alla gascromatografia, ma recentemente è stata utilizzata con successo anche in cromatografia liquida<sup>4</sup>. Nel presente lavoro è stato messo a punto un nuovo metodo di analisi delle aflatossine B1, B2, G1, e G2 da campioni di cereali tramite SPME accoppiata alla cromatografia liquida con derivatizzazione fotochimica post-colonna e rivelazione a fluorescenza. È stato effettuato uno studio comparativo su tre diverse fibre SPME: due costituite da un film di Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene (PDMS/DVB), con spessori pari a 60 e 100  $\mu\text{m}$ , ed una realizzata con resina Carbowax/templated (CW/TPR) da 50  $\mu\text{m}$  di spessore. Il metodo, opportunamente ottimizzato in tutte le sue fasi, è stato applicato su campioni di cereali (farina di grano tenero, farina di mais, riso, avena ed orzo). Tutti i campioni analizzati sono risultati negativi alla contaminazione delle aflatossine considerate. I limiti di determinazione (LOD) e quantificazione (LOQ) su campioni reali addizionati di una quantità nota di aflatossine sono stati rispettivamente 0,07 e 0,21  $\text{ng g}^{-1}$  per la B1, 0,03 e 0,10  $\text{ng g}^{-1}$  per la B2, 0,21 e 0,63  $\text{ng g}^{-1}$  per la G1 e 0,06 e 0,18  $\text{ng g}^{-1}$  per la G2.

1 Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006. *Official Journal of European Communities* **2006**, L 364/5.

2 B. Giray, G. Girgin, A. Basak Engin, S. Aydin, G. Sahin. *Food Control* **2007**, 18, 23-29.

3 J. Gilbert, E. Anklam. *Trends Anal. Chem.* **2002**, 21, 468-486.

4 A. Aresta, F. Palmisano, R. Vatinno, C.G. Zambonin *Agric. Food Chem.*, **2006**, 54, 1594-1598

OAL\_8

## Confronto tra l'uso di colonne HPLC in fase inversa accoppiate in serie e la cromatografia liquida “comprehensive” per la caratterizzazione di carotenoidi in prodotti agrumari.

*P. Dugo\**, *D. Giuffrida\**, *M. Herrero†*, *P. Donato†*, *L. Mondello†*

\* Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell'Ambiente, Università di Messina, Salita Sperone s.n. 98166, Messina

† Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata s.n. 98168, Messina

Gli agrumi sono considerati una delle fonti naturali più ricche e complesse di carotenoidi [1]. L'interesse nei confronti di questi composti è legato alle diverse proprietà benefiche tra cui l'attività antiossidante e antitumorale e la prevenzione di patologie cardio-vascolari. A causa della notevole complessità in cui esistono in natura, tecniche analitiche convenzionali non sono in grado di ottenere una separazione completa dei vari componenti [2]. Una metodologia analitica che ha trovato riscontro negli ultimi anni nella separazione di componenti presenti in miscele complesse, è rappresentata dalla cromatografia liquida “comprehensive”, anche se non ancora accessibile alla maggior parte dei laboratori analitici. Recentemente è stata dimostrata, la potenzialità di tale tecnica nella separazione sia di carotenoidi liberi che esterificati con diversi acidi grassi [3]. Una alternativa a tale tecnica è rappresentata dall'uso di colonne HPLC connesse in serie. Sebbene produca “peak capacities” inferiori rispetto alla cromatografia liquida “comprehensive”, questo tipo di set-up può essere utile in quanto permette di utilizzare un sistema HPLC convenzionale, presenta tempi di analisi inferiori rispetto all'analisi multi-dimensionale, e comunque un maggior poter risolutivo rispetto alla cromatografia liquida convenzionale.

In questo lavoro abbiamo confrontato le prestazioni offerte da entrambe le tecniche. In particolare, il sistema multidimensionale “comprehensive” investigato, consisteva di una micro-colonna in fase normale, nella prima dimensione e di una colonna monolitica C18, in fase inversa, nella seconda dimensione, accoppiate per mezzo di una valvola multiporte. Tale tecnica (LCxLC), caratterizzata dalla presenza di due dimensioni cromatografiche operate con due meccanismi di separazione indipendenti e ortogonali tra di loro e supportata dall'utilizzo dei rivelatori PDA ed MS, ha permesso di raggiungere elevati valori di “peak capacity” e l'identificazione di carotenoidi attraverso la formazione di gruppi di composti strutturalmente simili distribuiti in diverse zone del piano bidimensionale. Come confronto, è descritto l'uso di colonne C18 e C30 connesse in serie per la separazione di carotenoidi nelle stesse matrici.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR “Sviluppo di metodologie innovative per l'analisi di prodotti agroalimentari”. Shimadzu e Sigma-Aldrich/supelco per il loro continuo supporto.*

1. K. L. Goodner, R. L. Rouseff, and H. J. Hofsoner, *J. Agric. Food Chem.*, **2001**, 49, 1146-1150.
2. J. Melendez-Martinez, I. M. Vicario, and F. J. Heredia, *J. Food Compos. Anal.*, **2007**, 20, 638-649.
3. P. Dugo, M. Herrero, T. Kumm, D. Giuffrida, G. Dugo, L. Mondello, *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1189, 196-206.

OAL\_9

## Sviluppo di uno screening multiresiduo per la determinazione di farmaci e promotori di crescita su bovini da carne

M. Leporati<sup>1</sup>, M. Vincenti<sup>1,2</sup>, P. Capra<sup>3</sup>, D. Di Corcia<sup>1</sup>, C. Rossino<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Regionale Antidoping "A.Bertinaria", Orbassano (Torino), Italia

<sup>2</sup>Dipartimento di chimica analitica, Università degli Studi di Torino, Italia

<sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italia

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di mettere a punto un metodo analitico di screening multiresiduale per la ricerca, nell'urina bovina, di analiti appartenenti a 4 diverse classi di sostanze:  $\beta$ -agonisti, corticosteroidi, promazine e steroidi anabolizzanti. Le sostanze appartenenti alle prime tre classi sono largamente impiegate in maniera fraudolenta negli allevamenti a causa dei loro effetti come promotori di crescita; le promazine possono essere invece illecitamente impiegate in occasione della fase di trasporto degli animali al luogo di macellazione, allo scopo di prevenirne lo stress: è stato infatti riscontrato un legame diretto tra il livello di quest'ultimo e la qualità delle carni. Vista l'azione di tali sostanze risulta evidente come la loro presenza nel prodotto animale rappresenti un rischio per il consumatore. Attualmente le indagini di controllo consistono generalmente, a livello di screening, in test immunoenzimatici relativi ad una sola molecola o ad una singola classe di composti. Tali test, sebbene sensibili, mostrano una scarsa specificità che, se da un lato li rende in grado di rilevare la presenza di più molecole di una stessa classe, dall'altro non fornisce, in caso di positività, alcuna informazione quali-quantitativa a supporto della successiva, indispensabile analisi di conferma. Inoltre, molecole simili a quelle ricercate possono portare ad un falso positivo, che andrà ad innescare le procedure di conferma, in tal caso inutili nonché dispendiose. Il metodo messo a punto consente di effettuare con un'unica analisi lo screening di 34 sostanze. Esso prevede una prima fase di deconiugazione enzimatica del campione, mediante la  $\beta$ -glucuronidasi e l'aril-sulfatasi, allo scopo di liberare gli analiti dai legami formati a seguito delle reazioni di metabolismo di fase II. Vi è quindi la seconda fase che prevede un'estrazione con *tert*-butil-metil etere a pH basico ed infine l'analisi strumentale mediante HPLC-MS/MS, con sorgente ionica ESI (ioni positivi) ed analizzatore a triplo quadrupolo. Tale metodo presenta, in conformità con quanto previsto dal Piano Nazionale Residui 2008 un livello di prestazione analitica di 5 ng/ml per le promazine ed i metaboliti del nandrolone e di 1 ng/ml per tutti gli altri analiti. Il metodo è stato validato secondo la direttiva 657/2002/CE. In conclusione, il metodo messo a punto può costituire un'innovazione nei protocolli seguiti fin ora per il controllo sulla filiera degli allevamenti degli animali da carne, attraverso lo sfruttamento razionale delle tecnologie già a disposizione dei laboratori, con il risultato ultimo, ma fondamentale di una maggiore efficienza e completezza e quindi garanzia nei confronti dei consumatori.

1. Antignac, J.; Le Bizec, B.; Monteau, F.; Poulain, F.; Andre, F. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2000**, 14, 33-39
2. Deventer, K.; Delbeke, F.T. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2003**, 17, 2107-2114
3. Min-Jung Kang; Yong Hee Hwang; Won Lee; Dong-Hyun Kim *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, 21, 252-264
4. Thevis, M.; Schebalkin, T.; Thomas, A.; Schanzer, W. *Chromatographia* **2005**, 62, 435-439
5. Piano Nazionale Residui 2008 per la ricerca dei residui negli animali e in alcuni prodotti di origine animale
6. Decisione 657/2002/CE

OAL\_10

## **Nuove ricerche sui parametri cinetici del processo termossidativo isoterma dell'olio di oliva**

*L. Campanella\**, *R. Dragone\**, *A. Nuccilli\**, *M. Tomassetti\**, *S. Vecchio†*

\*Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza", Piazzale Aldo Moro, 5, 00185 Roma.

†Dipartimento di Ingegneria Chimica (I.C.M.A.), Università "La Sapienza", via del Castro Laurenziano, 7, 00161 Roma

L'olio di oliva, quello extravergine in particolare, è largamente utilizzato anche per effettuare la cottura degli alimenti, a volte però esso è troppo ripetutamente utilizzato. Purtroppo esistono soltanto delle norme generiche per mantenere adeguato il livello qualitativo dell'olio nella cottura, o nella frittura. D'altra parte la larga diffusione, nei settori industriale ed alimentare, dell'olio di oliva, ne rende lo studio di grande attualità, soprattutto per quel che riguarda lo stato di conservazione, o di alterazione del prodotto, nel corso dei processi di cottura. Recentemente abbiamo condotto parecchie ricerche a questo riguardo, nel caso dell'olio extravergine di oliva, registrando la cinetica del processo termossidativo dei polifenoli in esso contenuti. Nella presente ricerca, proprio partendo dalla cinetica degradativa dei polifenoli, cioè dei principali antiossidanti naturali contenuti nell'olio di oliva, determinati per mezzo di un OPEE (Organic Phase Enzyme Electrode) a tirosinasi, è stata ad esempio evidenziata la differenza del processo degradativo di oli industriali od artigianali; si è inoltre investigata la possibilità di studiare il processo di irrancidimento artificiale dell'olio extravergine di oliva, in isoterma, a fissate temperature, monitorando, con un noto metodo spettrofluorimetrico, da noi appositamente modificato, la variazione della capacità antiossidante totale, che si verificava nell'olio extravergine, proprio a causa del processo termossidativo dei polifenoli da noi condotto. Sono stati quindi calcolati e confrontati i principali dati cinetici del processo, ottenuti, sia elaborando i dati biosensoristici, che quelli spettrofluorimetrici, relativi alla prima parte del processo, ottenendo dei risultati in ottimo accordo. D'altra parte è stato anche studiato in dettaglio il processo degradativo, in isoterma a 98 °C e determinate le costanti di velocità, elaborando differenti "trend" di dati, ottenuti monitorando parametri diversi, quali la degradazione polifenolica, il numero dei perossidi e la formazione degli idroperossidi totali, mentre, utilizzando i "trend" di dati dei primi due parametri, si è cercato di confrontare il valore della costante di velocità del processo termossidativo dell'olio extravergine, con quelli relativi allo stesso processo, ma per il meno pregiato olio di oliva ed infine per l'olio di senza. Infine, poiché l'insorgere dei processi di irrancidimento degli acidi grassi, determina la formazione di idroperossidi, che si producono essenzialmente attraverso reazioni radicaliche, si è anche provato a verificare se fosse stato possibile rivelare, l'aumento della concentrazione radicalica prodottasi nell'olio extravergine, sottoposto a irrancidimento artificiale, utilizzando un OPEE a superossido dismutasi (SOD), da noi recentemente sviluppato. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza che ciò è possibile, ma solo dopo che l'olio venga privato degli antiossidanti contenuti, particolarmente dei polifenoli, ad esempio mediante pretrattamento con carbone. È stato in definitiva confermato che temperatura e tempo di riscaldamento sono fattori cruciali nei processi di formazione dei radicali liberi, durante le operazioni di cottura in cui venga impiegato olio di oliva, di qui l'importanza di conoscere bene i parametri cinetici per stabilire tempi e temperature che permettano di utilizzare con la massima sicurezza un prodotto di così rilevante importanza nell'alimentazione umana, come l'olio di oliva, particolarmente quello extravergine.

OAL\_11

# Resine chelanti quali sonde per la determinazione della concentrazione di metallo ione libero in matrici complesse contenenti leganti forti

*M. Pesavento, A. Profumo, G. Alberti, R. Biesuz*

Dipartimento di Chimica Generale dell'Università di Pavia  
via Taramelli 12 27100 Pavia, Italia. maria.pesavento@unipv.it

La valutazione della concentrazione di metallo-ione libero è importante per la corretta descrizione e comprensione dell'attività biologica dei metalli, ad esempio in fluidi biologici, in acque ambientali e nelle bevande. I metodi sperimentali attualmente disponibili per tale valutazione non sono molti numerosi, a causa dei bassi livelli di concentrazione dei metalli nei campioni citati e dell'ancora più bassa concentrazione del metallo-ione libero in campioni molto complessi, contenenti leganti incogniti. D'altra parte la determinazione sperimentale è indispensabile proprio per il fatto che i leganti sono incogniti. In tale situazione l'approccio alla valutazione della concentrazione del metallo-ione libero basato sul calcolo in base a modello non può evidentemente essere accurato. E' stato recentemente proposto un metodo per la valutazione della concentrazione dei metallo-ioni liberi a livelli molto bassi nelle acque naturali, basato sulla determinazione sperimentale della concentrazione di metallo-ione adsorbito su una resina complessate in condizioni di equilibrio ( $c_r$  in mmol/g)<sup>1</sup>. La relazione fondamentale è la seguente

$$[M] = \frac{c_r}{K^*}$$

$K^*$  è il coefficiente di ripartizione del metallo-ione M, che può essere valutato in un ampio intervallo di condizioni sperimentali. Tale valutazione è basata sul modello di Gibbs-Donnan per le resine a scambio ionico<sup>2, 3</sup>, e prevede la conoscenza della composizione del campione per quanto riguarda la concentrazione dei componenti ionici principali e della acidità, e degli equilibri di adsorbimento dello ione considerato sulla resina in esame, determinati in esperimenti indipendenti sempre in base al modello di Gibbs-Donnan. Una quantità nota di resina viene equilibrata in batch con un volume noto di campione, in questo caso una bevanda, e la concentrazione di metallo-ione adsorbita,  $c_r$ , viene determinata con il metodo preferito. In questo caso sono stati utilizzati metodi di spettroscopia atomica. I leganti coinvolti nella complessazione vengono studiati con il metodo della titolazione con resina (RT), tramite il quale si può valutare la loro concentrazione e le costanti di complessazione condizionali. Questo metodo è stato utilizzato per valutare la concentrazione di Cu(II) libero in un vino. Tale specie sembra essere responsabile della velocità di ossidazione, e quindi di imbrunimento, del vino stesso. Si è anche determinate la concentrazione di Al(III) libero in un infuso di tè. Ciò è interessante in quanto gli effetti tossici dell'alluminio, recentemente scoperti, sembrano essere soprattutto collegati allo ione alluminio libero. In effetti la concentrazione totale di alluminio nei campioni considerati era piuttosto alta, circa  $10^{-4}$  M, ma quella del metallo-ione libera era inferiore di molti ordini di grandezza. Questo diminuisce notevolmente la tossicità dell'alluminio assunto tramite il tè.

1. R. Biesuz, G. Alberti, M. Pesavento *J. Sol. Chem.* **2008**, *37*, 527-534.
2. M. Pesavento, R. Biesuz *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3558-3563.
3. G. Alberti, M. Pesavento, R. Biesuz *Reactive & Functional Polymers* **2007**, *67*, 1083-1093.

OAL\_12

## Identificazione con tecnica TL di prodotti ittici irraggiati

*G. Marchesani, A.E. Chiaravalle, M. Mangiacotti*

Centro di Referenza Nazionale per la Ricerca della Radioattività nel Settore Zootecnico-Veterinario. Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata - Foggia  
e-mail: e.chiaravalle@izsfg.it

Il mercato alimentare mondiale si trova ad affrontare oggi alcuni importanti problemi tra cui l'incremento di fenomeni di deterioramento con la conseguente perdita di enormi quantità di cibo, stimato tra 1/4 ed 1/3 della produzione totale, ed il continuo aumento di malattie legate alla presenza negli alimenti di microrganismi patogeni. Inoltre la continua crescita della popolazione mondiale e la conseguente maggiore richiesta di cibo richiedono in maniera urgente la disponibilità e l'implementazione di idonee ed efficaci tecnologie di conservazione degli alimenti. Tra queste la food irradiation, che utilizza come agente sterilizzante le radiazioni ionizzanti prodotte da sorgenti radioattive o da acceleratori dedicati, è una tecnica che è andata sempre più affermandosi nel panorama mondiale. Quindi il problema del trattamento delle derrate alimentari con radiazioni ionizzanti è attuale nei paesi dell'Unione Europea, ed in particolare in Italia grazie al D.L.vo n. 94 del 30/01/2001, che dà attuazione alle direttive comunitarie 1999/2/CE e 1999/3/CE. A seguito delle raccomandazioni, formulate dalle maggiori organizzazioni internazionali, in vari paesi è stato concesso un numero crescente di autorizzazioni a carico della categoria dei prodotti ittici. Attualmente è stato stabilito un elenco positivo di prodotti trattati ad una dose massima di 10 kGy e in attesa che la lista venga completata ogni Paese mantiene le autorizzazioni nazionali vigenti. Inoltre ciascuno Stato Membro, indipendentemente dalla circostanza che venga effettuato o meno il trattamento sul proprio territorio, è, con la globalizzazione degli scambi commerciali, costretto ad affrontare l'immissione sul mercato interno di prodotti trattati in altri paesi europei e non. E' quindi evidente la necessità della disponibilità, dello sviluppo e validazione di metodi di identificazione su matrici non ancora validate; ciò costituisce un efficace mezzo di tutela dei consumatori e potrebbe anche favorire una maggiore accettazione dei prodotti trattati da parte del consumatore. Tra le diverse metodologie analitiche a disposizione, spicca per versatilità ed affidabilità la tecnica della termoluminescenza (TL), adatta a rivelare gran parte dei prodotti ittici suscettibili di essere irraggiati.

L'obiettivo principale di questo lavoro è quindi quello di verificare l'applicabilità del metodo, validato in ambito europeo solo per alcune matrici (1), ed estendere il campo di applicazione ad altre tipologie di molluschi e crostacei di largo consumo quali vongole ed ostriche, matrici non ancora validate. L'analisi qualitativa e la validità del metodo sono state confermate con prove intralaboratorio ricavando i principali parametri di validazione quali la stabilità della risposta del segnale (fading) ed il livello di minima dose di trattamento per cui il segnale risulta rivelabile. Inoltre verrà presentato il risultato di uno studio condotto sui differenti metodi per l'estrazione e la separazione dei minerali silicati dalle diverse parti esterne (gusci) od interne (intestini) dei molluschi e dei crostacei. Infine verranno mostrati i risultati preliminari di un monitoraggio condotto su prodotti ittici suscettibili di essere irraggiati e prelevati sul mercato locale, fornendo i primi dati analitici ufficiali sulla presenza di alimenti trattati con radiazioni ionizzanti e non correttamente etichettati presenti in fase di commercializzazione.

Norma UNI EN 1788 "Thermoluminescence detection of irradiated food from which silicate minerals can be isolated".

OTC\_1

## Alchilazione di ribonucleotidi complementari: uno studio mediante HPLC-ESI-MS e MS<sup>n</sup>

*I. Losito,\* R. Angelico,† S. Diomede,\* G. De Zio,\* A. Ceglie,†  
F. Palmisano,\* P. G. Zambonin\**

\*Centro Interdipartimentale SMART, Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari,  
Via E. Orabona 4, 70126 Bari

†DISTAAM, Università del Molise, Via De Sanctis, 86100 Campobasso

L'esposizione degli organismi viventi ad agenti alchilanti esogeni, fra cui le nitrosammine, il dimetil-solfato e gli epossidi alifatici e aromatici, può portare all'estesa alchilazione dei (deossi)ribonucleotidi presenti nel DNA/RNA, facendo aumentare la probabilità che si verifichino errori di copiatura del materiale genetico, da cui possono derivare effetti patologici come l'invecchiamento cellulare prematuro o lo sviluppo di tumori<sup>1</sup>. Il processo può riguardare sia gli atomi di azoto (eso- ed endociclici) e ossigeno delle relative basi azotate sia i gruppi ossidrilici del gruppo fosfato o dell'anello (deossi)ribosico dei nucleotidi<sup>2</sup>. In vivo, tuttavia, l'appaiamento fra basi complementari può giocare un ruolo chiave nella reattività, rendendo stericamente impediti gruppi facilmente alchilabili sui nucleotidi liberi, e favorendone altri, meno reattivi. L'effetto di tale appaiamento sull'alchilazione da parte di 1,2-dodecil-eossido è stato recentemente<sup>3</sup> studiato in vitro per la coppia adenosina monofosfato (AMP)-uridina monofosfato (UMP), facendo avvenire la reazione in un ambiente nanostrutturato ricreato artificialmente, a base di micelle di cetil-trimetil-ammonio-bromuro (CTAB) in fase acquosa, avente la duplice funzione di disperdere l'eossido idrofobico e offrire un'elevata interfase che favorisca l'interazione fra nucleotidi e agente alchilante. L'analisi mediante HPLC-ESI-MS,MS/MS delle miscele di reazione ha evidenziato la formazione di derivati mono e bi-alchilati per entrambi i nucleotidi, sia se presenti da soli che in miscela. Nel lavoro oggetto della presente comunicazione l'approccio analitico ora citato, potenziato dall'impiego della spettrometria di massa sequenziale (MS3), ha consentito un'approfondita caratterizzazione del processo di alchilazione da dodecil-eossido dei due nucleotidi. L'indagine ha mostrato che, se sottoposti a reazione per tempi sufficientemente lunghi, AMP e UMP possono subire fino a tre alchilazioni, coinvolgenti sia uno dei siti alchilabili della base azotata sia gruppi OH legati al fosforo e al ribosio, potenzialmente meno reattivi. La caratterizzazione strutturale dei derivati alchilati, inoltre, ha suggerito che, se poco ingombrati stericamente, i siti alchilabili dei nucleotidi possono attaccare l'eossido anche nella posizione meno accessibile (ossia il carbonio più interno impegnato nel ponte epossidico). Nel caso di miscele UMP-AMP, infine, lo studio ha evidenziato sottili variazioni della tipologia dei prodotti di alchilazione, in cui la reazione di apertura dell'anello epossidico sembra essere sfavorita a livello dei siti reattivi impegnati nell'appaiamento fra le basi uracile e adenina.

1. F. Drablos, E. Feyzi, P.A. Aas, C.B. Vaagbo, B. Kavli et al. *DNA repair* **2004**, *3*, 1389-1407.
2. M. Koskinen, L. Plná, *Chem. Biol. Interact.* **2000**, *129*, 209-229 e riferimenti ivi citati.
3. R. Angelico, A. Ceglie, F. Cuomo, C. Cardellicchio, G. Mascolo, G. Colafemmina, *Langmuir* **2008**, *24*, 2348-2355.

OTC\_2

## Structural determination of new flavonoids in bergamot

*L. Di Donna, G. De Luca, F. Mazzotti, A. Napoli, R. Salerno, D. Taverna, G. Sindona*

Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Via P. Bucci, cubo 12/C I-87036 Rende  
e-mail: [l.didonna@unical.it](mailto:l.didonna@unical.it)

Bergamot is the common name of the citrus fruit belonging to Species *Bergamia*; the uniqueness of bergamot trees is represented by their habitat virtually restricted to a tiny coastal region of the Ionian Sea in the south of Calabria region, in Italy. Furthermore, the production of Bergamot has been the flagship of the calabrian agriculture for many years and its volatile fraction is still used in the cosmetic and perfumery industries, despite the presence in the market of synthetic surrogates. Another peculiarity of the fruit is the considerable abundance and variety of nutraceuticals, such as naringin, neoeriocitrin, neohesperidin,<sup>1,2,3</sup> present in the juice, in the order of hundreds ppm. Other flavonoids, such as rhoifolin, neodiosmin, chrysoeriol derivatives etc.<sup>1,2,3</sup> are present in smaller amounts. Yet, bergamot juice has never reached the popularity of other citrus juices in daily diet, on the contrary, its disposal poses problems to industries extracting the essential oil from the fruit. A preliminary screening of the mass (MS) and High Resolution MS/MS spectra of the analytes present in bergamot juice allow us to assume the presence of flavonoid diglycosides carrying the 3-hydroxy-3-methyl glutaric acid (HMG) moiety. The latter when conjugated with coenzyme A (CoA) is a key substrate in the biosynthesis of cholesterol, whereas some of its synthetic derivatives, known as statins, play an important role as specific inhibitors of the reductase enzyme controlling the pathway leading to the formation of LDL cholesterol.<sup>4</sup> Four novel molecules have been isolated and identified through HR-MSMS and HR-NMR as HMG conjugates of neohesperidin, naringin, rhoifolin and neodiosmin and named as brutieridin (hesperetin 7-(2''- $\alpha$ -L-rhamnosyl-6'''-(3''''-hydroxy-3''''-methyl-glutaryl)- $\beta$ -D-glucoside)), melitidin (naringenin 7-(2''- $\alpha$ -L-rhamnosyl-6'''-(3''''-hydroxy-3''''-methyl-glutaryl)- $\beta$ -D-glucoside)), condofurin (apigenin 7-(2''- $\alpha$ -L-rhamnosyl-6'''-(3''''-hydroxy-3''''-methyl-glutaryl)- $\beta$ -D-glucoside)) and scillerin (diosmetin 7-(2''- $\alpha$ -L-rhamnosyl-6'''-(3''''-hydroxy-3''''-methyl-glutaryl)- $\beta$ -D-glucoside)). To the best of our knowledge, the identification in plants of similar, glucoside-flavonoid HMG conjugates was described in the case of *Chamaemelum nobile*, only.<sup>5</sup>

1. G. Gattuso, C. Caristi, C. Gargiulli, E. Bellocco, G., U. Leuzzi *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 3929-3935.
2. Y. Nogata, K. Sakamoto, H. Shiratsuchi, T. Ishii, M. Yano, H. Ohta *Biosci. Biotech. Bioch.* **2006**, *70*, 178-192.
3. P. Dugo, M. Lo Presti, M. Öhman, A. Fazio, G. Dugo, L. Mondello *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 1149-1156.
4. N. Miceli, M. R. Mondello, M. T. Monforte, V. Sdrafkakis, P. Dugo, M. L. Crupi, M. F. Taviano, R. De Pasquale, A. Trovato *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 10671-10677.
5. G. M. Tschan, G. M. Konig, A. D. Wright, O. Sticher *Phytochemistry* **1996**, *41*, 643-646.

OTC\_3

# Identificazione dei biomarker usati dai batteri Gram-negativi per la comunicazione intercellulare mediante cromatografia liquida e spettrometria di massa con trappola ionica ciclotronica in trasformata di Fourier (LC-ESI-FTICR-MS)

*G. Bianco, S. Abate, T. R. I. Cataldi*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata,  
Via N. Sauro, 85, 85100, Potenza ([tommaso.cataldi@unibas.it](mailto:tommaso.cataldi@unibas.it))

Per *quorum sensing* (QS) si intende il meccanismo di comunicazione batterica intercellulare impiegato per il controllo dell'espressione genica in funzione della densità di popolazione [1]. Le molecole mediatrici del QS o autoinduttori più comunemente utilizzate dai batteri gram-negativi appartengono alla famiglia degli *N*-acil-omoserina-lattoni (AHSL), prodotti da una sintetasi appartenente alla famiglia delle proteine *LuxI*. L'attivazione della trascrizione dei geni coinvolti deriva dalla formazione di un complesso con un attivatore trascrizionale del tipo *LuxR*. Ad una certa densità cellulare, gli AHSL prodotti sono in grado di interagire con i recettori della parete batterica che controllano l'espressione di specifici geni e modificano le caratteristiche dei batteri. I vari AHSL prodotti da specie batteriche diverse si differenziano per la lunghezza e la struttura della catena acilica e sembrano essere capaci di attraversare rapidamente la parete cellulare fino a diffondersi nel mezzo culturale, variando così sensibilmente la propria concentrazione. Diversi sono i processi biologici regolati dal QS: fattori di virulenza, produzione di enzimi, motilità e adesione cellulare, trasferimento di plasmidi, formazione di biofilm, *etc.* [2,3].

Le attività in corso nel nostro laboratorio sono volte alla determinazione dell'intera famiglia dei metaboliti secondari AHSL mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa e rivelazione con trappola ionica ciclotronica in trasformata di Fourier (LC-ESI-FTICR-MS) [3], e all'individuazione dei loro precursori (*S*-adenosilmetionina, 5'-metiltioadenosina, adenosina, metionina, *etc.*) in estratti di brodi culturali di batteri gram-negativi. Molti batteri patogeni dell'uomo si servono di questi biomarker *N*-acilomoserinici, e il loro studio potrebbe rappresentare uno strumento utile per sviluppare sistemi in grado di inibire e combattere la virulenza batterica. In questa comunicazione saranno riportati i risultati ottenuti nella fase di caratterizzazione dell'intero set di AHSL in colture batteriche di *Pseudomonas aeruginosa*. La presenza di due lattoni, 3OC<sub>12</sub>-HSL e 3OC<sub>10</sub>-HSL assieme alle forme idrolizzate, *N*-3-cheto-decanoil-omoserina (3OC<sub>10</sub>-HS) e *N*-3-cheto-dodecanoil-omoserina (3OC<sub>12</sub>-HS), le quali non vengono rivelate dai tradizionali biosensori batterici, è stata resa possibile da misure di massa accurata e confermata mediante spettrometria di massa tandem.

1. C. Fuqua, E.P. Greenberg, *Nature Rev. Molecular Cell Biol.* **2002**, *3*, 685-695.
2. P. Williams, *Microbiology* **2007**, *153*, 3923-3938.
3. C. M. Waters, W. Lu, J. D. Rabinowitz, and B. L. Bassler, *J. Bacteriol.* **2008**, *190*, 2527-2536.
4. T.R.I. Cataldi, G. Bianco, S. Abate, *J. Mass Spectrom.* **2008**, *43*, 82-96.

OTC\_4

## Studi di fotodegradazione dei coloranti E110 e E122 in un aperitivo mediante HPLC-DAD-MS/MS

*F. Gosetti, P. Frascarolo, E. Mazzucco, V. Gianotti, M. Bottaro, M.C. Gennaro*

Università del Piemonte Orientale, DISAV Dipartimento di Scienze dell’Ambiente e della Vita,  
via Bellini 25/G, 15100 Alessandria, Italy - email: fabio.gosetti@mfu.unipmn.it

Recenti interessi rivolti alla sicurezza alimentare studiano i possibili processi di degradazione di additivi alimentari per azione della luce solare. Un aspetto particolare di questo fenomeno riguarda la degradazione di coloranti alimentari usati per colorare le bevande. I coloranti di per sé non sono tossici e il loro utilizzo segue le Direttive Europee ma, probabilmente a causa della co-presenza di altri ingredienti nella bevanda, possono diventare instabili e dare luogo a reazioni di fotodegradazione [1,2].

Questo studio prende in considerazione le reazioni di fotodegradazione dei coloranti alimentari E110 (giallo) e E122 (rosso) contenuti in un aperitivo commerciale, che si decolora dopo 16 giorni di esposizione alla luce solare. Le analisi HPLC-DAD-MS/MS hanno evidenziato che il processo di fotodegradazione porta alla formazione di altre specie organiche con struttura aromatica e di addotti con ingredienti presenti nell’ aperitivo, in particolare con lo sciroppo di glucosio-fruttosio.

I prodotti di degradazione identificati nell’aperitivo decolorato derivano principalmente dal colorante E122 e sono potenzialmente tossici. Inoltre durante lo studio sono stati identificati, anche nell’aperitivo non sottoposto a degradazione, prodotti con struttura naftalenica, probabilmente impurezze provenienti dal processo di sintesi del colorante.

Il metodo HPLC-DAD-MS/MS sviluppato ha permesso inoltre di identificare e determinare in un prodotto commerciale per la colorazione dei dolci contenente E122, l’acido 4-amino-1-naftalensolfonico.

*Si ringraziano la Regione Piemonte, Ricerca Sanitaria Finalizzata (2006, 2007) e l’Associazione Ambiente-Territorio e Formazione di Alessandria.*

1. F. Gosetti, V. Gianotti, E. Mazzucco, S. Polati, M.C. Gennaro *Dyes Pigments* **2007**, 74, 424-432.
2. F. Gosetti, V. Gianotti, S. Polati, M.C. Gennaro *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1090, 107-115.

OTC\_5

## Determinazione di bromo- e cloro-anisoli in campioni di vino mediante microestrazione in fase solida (SPME-HS) e gas-cromatografia con spettrometria di massa ad alta risoluzione (GC-HRMS)

*G. Novario, R. Zianni, G. Bianco, T. R.I. Cataldi*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata,  
Via N. Sauro, 85, 85100, Potenza ([tommaso.cataldi@unibas.it](mailto:tommaso.cataldi@unibas.it))

Nel vino sono stati individuati più di 800 composti volatili che ne caratterizzano il bouquet aromatico [1]. Il vino può anche avere odori e sapori di muffa o stantio, classificati come difetti organolettici. Un particolare difetto sensoriale, comunemente noto come *sapore di tappo* o *difetto di muffa*, è uno tra i più sgradevoli per il vino [2]. Il 2,4,6-tricloroanisolo (2,4,6-TCA), il 2,3,6-TCA, il 2,3,4-TCA, il 2,3,4,6-tetracloroanisolo (TeCA), il pentacloroanisolo (PCA) ed il 2,4,6-tribromoanisolo (TBA) sono riconosciuti essere i principali responsabili del difetto di tappo [3,4]. Si ritiene che per percepire il difetto di tappo bastino circa 2-3 ng di 2,4,6-tricloroanisolo in un litro di vino. Utilizzando la microestrazione in fase solida con il metodo dello spazio di testa (SPME-HS) accoppiata alla gascromatografia con spettrometria di massa ad alta risoluzione (GC-HRMS) abbiamo sviluppato un metodo analitico particolarmente sensibile per la determinazione dei cloro- e bromo-anisoli in campioni di vino che consente la loro rivelazione al di sotto della soglia di percezione olfattiva.

In questa comunicazione verranno riportati i primi risultati ottenuti utilizzando una fibra di polidimetilsilossano (PDMS) da 100 µm. La scelta del PDMS è stata fatta in considerazione di una migliore stabilità della fibra e riproducibilità dei risultati sperimentali. La fibra SPME-PDMS è stata esposta nello spazio di testa per 20 minuti, sotto agitazione e ad una temperatura di 50 °C. La separazione è stata eseguita utilizzando una colonna DB-5 da 30 m (250 µm d.i., 0,25 µm film). La ionizzazione ad impatto elettronico (50 eV) e l'acquisizione degli spettri di massa in modalità di monitoraggio dello ione multiplo (MIM), ad una risoluzione di 10.000, hanno consentito di ottenere la selettività e la sensibilità richiesta per lo studio degli anisoli presenti nei vini a concentrazioni dell'ordine dei ppt. Come standard interno è stato utilizzato il 2,4,6-tricloroanisolo deuterato (2,4,6-TCA-d<sub>3</sub>). Il limite di rivelabilità strumentale, ad un rapporto segnale rumore pari a 3, è risultato essere inferiore a 0.2 ng/L. Le condizioni ottimizzate di estrazione, di separazione gas-cromatografica e rivelazione sono state impiegate per la determinazione dei cloro- e bromoanisoli in diversi campioni di vino, diversi per annata, colore, origine e qualità. In alcuni vini la concentrazione è risultata essere inferiore alla soglia di percezione olfattiva.

1. M. Bonino, R. Scellino, C. Rizzi, R. Aigotti, C., Delfini, C. Baiocchi, *Food Chem.* **2003**, *80*, 125.
2. O. Ezquerro, A. Garrido-Lopez, M.T. Tena, *J. Chromatogr. A*, **2006**, *1102*, 18.
3. H.R. Buser, C. Zanier, H. Tanner, *J. Agric. Food Chem.* **1982**, *30*, 359.
4. P. Châtonnet, S. Bonnet, S. Boutou, M.D. Labadie, *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, *52*, 1255.

OTC\_6

## **Overcoming signal suppression and other matrix effects in nano-HPLC-MS using electron ionization.**

*V. Termopoli, H. Trufelli, G. Famiglioni, E. Pierini, P. Palma, A. Cappiello*

Università di Urbino “Carlo Bo” – Istituto di Scienze Chimiche “F. Bruner”  
Piazza Rinascimento, 6 – 61029 Urbino

High-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI-MS) has revolutionized the analytical approach to the quantitative determination of analytes in biological fluids. However an important drawback in method development, validation and routine use of HPLC-ESI-MS is represented by “matrix effect” (ME). This phenomenon is considered to be an unexpected suppression or enhancement of the analyte response due to co-eluting constituents. Recent studies revealed that the occurrence of matrix effect is frequently accompanied by a significant deterioration of both method precision and sensitivity. Due to these serious limitations, questions about how to develop and validate reliable HPLC-MS methods have being raised. A new efficient nanoHPLC-MS interface based on electron ionization (DirectEI) has been presented for the analysis of small-medium molecule. The Direct-EI interface allows the direct introduction of the effluent from a nano-HPLC column into the electron ionization ion source of a mass spectrometer. DirectEI, using a gas-phase ionization technique, can eliminate most of the matrix effects observed with ESI. In fact, the gas-phase ionization of DirectEI is influenced neither by the mobile phase nor by other matrix components so that the signal response is always proportional only to analyte concentration. This effort simplifies sample preparation procedures that can be very complex and time consuming prior to ESI. In this work the DirectEI capability of overcoming ME was investigated on human plasma samples subjected to different extraction procedures. Two drugs (ibuprofen and phenacetin) were used as model compounds.

OTC\_7

## Tecniche Cromatografiche Multidimensionali (Comprehensive) accoppiate alla spettrometria di massa per l'analisi di miscele complesse

L. Mondello

Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata s.n. 98168, Messina  
Italia

Matrici complesse richiedono tecniche analitiche ad elevato potere di risoluzione per poter ottenere la separazione di tutti i componenti di interesse. Spesso, è necessario ricorrere alle tecniche cromatografiche multidimensionali se si richiede la completa caratterizzazione del campione. Le tecniche MD possono essere usate nella modalità “heart-cutting” o “comprehensive”. Nel primo caso, si può ottenere l'analisi multidimensionale solo di frazioni specifiche della matrice iniziale, mentre nel secondo caso si ottiene l'analisi di tutto il campione in entrambi le dimensioni, con enormi guadagni in termini di risoluzione<sup>1,2</sup>.

Le tecniche cromatografiche multidimensionali “comprehensive”, sono delle tecniche analitiche multidimensionale in grado di separare tutto il campione nelle due dimensioni. Il sistema è costituito da due colonne, interponendo tra loro un opportuno modulatore che regola il trasferimento delle frazioni tra le due colonne. Nel caso della GCxGC<sup>3,4</sup> la prima dimensione prevede l'utilizzo di una colonna capillare, con caratteristiche analoghe a quelle utilizzate in metodiche convenzionali (25/30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm df). La seconda colonna, invece, è più corta ed è caratterizzata da un diametro interno ridotto (1/2 m x 0,1 mm d.i. x 0,1 µm df), al fine di garantire una separazione molto più rapida (1-10 sec.) rispetto alla prima dimensione (45-120 min.). Nel caso della LCxLC la prima dimensione prevede l'utilizzo di una colonna micro (15 cm x 1 mm d.i. x 3 µm) per ottimizzare il volume di liquido trasferito nella seconda dimensione che invece ha caratteristiche tali da consentire un'analisi ultra rapida (3 cm x 4.6 mm d.i.) con l'utilizzo di colonne monolitiche o pellicolari. Tale tecnica caratterizzata dalla presenza di due dimensioni cromatografiche operate con due meccanismi di separazione indipendenti e ortogonali tra di loro, ha permesso l'identificazione di numerosi componenti attraverso la formazione di gruppi di composti strutturalmente simili distribuiti in diverse zone del piano bidimensionale. La presente relazione verterà sulla presentazione delle diverse tecniche multidimensionali (GCxGC/qMS, LCxLC/MS e LCxGC/qMS) con particolare riferimento ai modulatori utilizzati nelle varie tecniche per la separazione e la quantizzazione di miscele complesse<sup>5,6</sup>.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXXMR “Sviluppo di metodologie innovative per l'analisi di prodotti agroalimentari”. Shimadzu e Sigma-Aldrich/supelco per il loro continuo supporto.*

1. P. Dugo, O. Favoino, R. Luppino, G. Dugo, L. Mondello *Anal. Chem.* **2004** 76, 2525-2530.
2. P. Dugo, V. Skerikova, T. Kumm, A. Trozzi, P. Jandera, L. Mondello *Anal. Chem.* **2006**, 78, 7743-7750.
3. P. Q. Tranchida, P. Donato, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello *Trends in Anal. Chem.*, **2007**, 26, 191-205.
4. P. Q. Tranchida, A. Casilli, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello *Anal. Chem.* **2007** 77, 2266-2275.
5. L. Mondello, P. Q. Tranchida, P. Dugo, G. Dugo *Mass Spectrom. Rev.* **2008** 27, 101-124.
6. L. Mondello, M. Herrero, T. Kumm, P. Dugo, H. Cortes, G. Dugo *Anal. Chem.* In Stampa

OTC\_8

## **Approccio alla cromatografia micro e nano nell'interfacciamento alla spettrometria di massa**

*A. Di Pinti*

Product Specialist Life science, LabService Analytica Srl

Negli ultimi anni lo sviluppo delle tecniche di spettrometria di massa ha incrementato la necessità, per un primo problema di interfacciamento con la sorgente e per aumentare la risoluzione cromatografica, di strumenti cromatografici a basso flusso. I segmenti maggiormente richiesti operano nell'intervallo delle colonne cromatografiche da 1 mm id, mentre nelle applicazioni proteomiche o bidimensionali si richiedono flussi e colonne molto più piccoli (nano e capillary LC).

Eksigent e Labservice analitica operano in Italia al follow up tecnico e applicativo nel settore micro e nano LC nelle applicazioni alimentari, biotecnologiche e forensi.

OTC\_9

## Recenti sviluppi nelle tecniche comprehensive

*G. Stani, E. Sebastiani, A. Miliazza, G. Corbelli*

SRA Instruments Italia S.r.l. – Viale Assunta 101, 20063 Cernusco S/N (MI),  
stani@srainstruments.com

Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCXGC) is regarded as one of the most powerful methods of separation for complex mixture. Compared to a single separation GCXGC can improve peak resolution and peak capacity to provide highly detailed sample characterization. Several are the application fields where the technique starts to be used: aroma and fragrances, environmental and legal chemistry, petroleum industry.

GCXGC employs an interface device, the modulator, between the first and the second column. Two type of modulators are widely used: the thermal modulator and the flow modulator.

The thermal modulation mode uses hot and cold jets of gaseous nitrogen to continuously and efficiently trap and inject portions of eluting peaks from the primary column into the secondary one.

In the flow modulation mode, analyte bands coming from the first column are collected into a fixed volume; the following step is the very fast injection of the collected volume into the short second column in very narrow band using the Agilent Capillary Flow Technologies.

High complex mixture separations together with their identifications and quantifications will be discussed in this paper by using comprehensive GCXGC\_MS.

OTC\_10

## **Elettroforesi Capillare Spettrometria di Massa (CE-MS): metodi innovativi di indagine per la determinazione di descrittori molecolari di prodotto e/o di processo negli alimenti**

*C. Corradini, A. Cavazza, C. Merusi, P. Salvadeo*

Dipartimento di Chimica Generale e Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica –  
Università di Parma, Parco Area delle Scienze, Parma

Nell'ambito delle tecniche separative strumentali, l'elettroforesi capillare (CE), è una tecnica analitica innovativa in continuo sviluppo. L'elettroforesi capillare è sempre più frequentemente impiegata in campo analitico per la soluzione di problemi separativi di numerosi composti quali aminoacidi, farmaci, sostanze chirali, vitamine, pesticidi, ioni inorganici, acidi organici, carboidrati, peptidi, proteine, polinucleotidi e numerose altre molecole sia cariche che neutre, consentendo inoltre la possibilità di eseguire determinazioni "ortogonali" rispetto a quelle eseguibili con tecniche tradizionali.

La presente comunicazione riporta alcuni risultati relativi allo sviluppo e validazione dell'elettroforesi capillare interfacciata alla spettrometria di massa (CE-MS) come tecnica analitica applicata alla determinazione di marker molecolari di prodotto o di processo di interesse in campo alimentare. In particolare verranno presentati alcuni risultati ottenuti mediante elettroforesi capillare interfacciato ad uno spettrometro di massa con ionizzazione ESI ed analizzatore di massa a trappola ionica, mezzo d'indagine particolarmente efficace nelle determinazioni analitiche di matrici complesse e particolarmente versatile per analisi strutturali e conoscitive dei descrittori molecolari dei processi di imbrunimento non enzimatico negli alimenti. Verranno illustrate le varie strategie analitiche possibili e discussi i risultati conseguiti in comparazione con quelli ottenuti mediante un metodo HPLC convenzionale.

OTC\_11

## Nanoparticelle di Au e nanostrutture frattaliche di Ag: caratterizzazione spettroscopica e applicazione in spettrometria di massa MALDI-MS

*N. Cioffi*<sup>\*†</sup>, *L. Colaianni*<sup>\*</sup>, *C. D. Calvano*<sup>\*</sup>, *R. Pilolli*<sup>\*</sup>,  
*F. Palmisano*<sup>\*†</sup>, *P. G. Zambonin*<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup> Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari, Via Orabona 4, 70125, Bari, Italy

<sup>†</sup> Centro Interdipartimentale SMART, Università degli Studi di Bari, Bari, Italy  
[cioffi@chimica.uniba.it](mailto:cioffi@chimica.uniba.it)

A partire dal 2005, si è assistito alla rinascita di un marcato interesse verso l'applicazione di nanoparticelle di metalli di transizione (NPs) come matrici non convenzionali in *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Mass Spectrometry* (MALDI-MS) [1]. Negli ultimi quattro anni, si contano più di un centinaio di lavori pubblicati sull'argomento, molti dei quali si occupano della rivelazione e della estrazione da campioni complessi di analiti *target* utilizzando nanostrutture funzionalizzate.

In questo contributo sono descritte la sintesi e la caratterizzazione analitica di Au-NPs e nanostrutture frattaliche di Ag (Ag-NFs) preparate per via elettrochimica. I nanomateriali sono stati inoltre impiegati come matrici non convenzionali in spettrometria MALDI-MS applicata alla rivelazione di amminoacidi, peptidi ed altri analiti a basso peso molecolare.

Le Au-NPs sono state sintetizzate in soluzione colloidale in presenza di tensioattivi cationici (sali di ammonio quaternario con catene lineari a quattro, otto e dodici atomi di carbonio), utilizzando una versione modificata dell'approccio messo a punto da M.T. Reetz. [2,3]. Le nanostrutture frattaliche di Ag sono state elettrosintetizzate seguendo un protocollo messo a punto recentemente nei nostri laboratori.

La caratterizzazione chimico-analitica delle nanostrutture è stata condotta mediante spettroscopia fotoelettronica a raggi X, spettrofotometria UV-vis, e microscopie elettroniche in trasmissione e scansione.

L'impiego delle nanostrutture come matrici non convenzionali in MALDI-MS ha permesso di ottenere spettri con un numero relativamente limitato di picchi interferenti, soprattutto nella regione dei bassi valori di rapporto massa/carica (<1000Th). Le nanostrutture hanno restituito *pattern* di ionizzazione prevalentemente basati sulla formazione di addotti fra l'analita e ioni metallici. Nel caso delle Au-NPs si sono ottenuti prevalentemente addotti con cationi alcalini (aggiunti all'uopo, o già presenti nella struttura della nanoparticella), mentre nel caso degli Ag-NFs, si sono ottenuti addotti con ioni Ag<sup>(1)</sup>.

1. McLean, J.A.; Stumpo, K.A.; Russell, D.H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5304-5305.
2. Reetz, M.T.; Helbig, W. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7401-7402.
3. Cioffi, N.; De Palo, F.; Calvano, C.D.; Palmisano, F.; Zambonin, P.G. *Sens. Lett.* **2008**, *in press*.

OTC\_12

## **Hybrid Fourier Transform Mass Spectrometer Varian 920-MS: a new powerful tool for high resolution mass spectrometry**

*J. Su. Becker, K. Pihakari*

Varian Inc., Oxford Industrial Park, Yarnton, Oxford, United Kingdom, 2 Varian FTMS Systems, Lake Forest, California, United States

The new hybrid Fourier Transform Mass Spectrometer Varian 920-MS TQ-FTMS is a combination of a high resolution FTICRMS with a triple quadrupole (TQ) instrument inserted between the ion source and the FTMS 920-MS to provide more experimental capabilities in a single instrument. The available field strengths include 7, 9.4, 12.0 and now 15.0 Tesla - the highest field commercially available in an FTMS magnet, providing the largest sample dynamic range of any FTMS system. The superconducting magnets are available both in conventional and zero boil-off design. The ultra-high mass resolution ( $>1,000,000$ ) and mass accuracy ( $<0.5$  ppm) of the hybrid instrument provide detailed information in different application fields like proteomics, metabolomics, petrochemical and environmental analyses.

The uniqueness of this instrument is partially due to the secondary detector in the TQ region that allows the instrument to be used as a typical TQ instrument for experiments including multiple reaction monitoring and neutral loss scanning. The ultimate versatility is achieved by the rapidly switchable 'plug-and-play' ionization source that allows the user to switch between gas chromatography (GC: EI – electron impact/PCI – positive chemical ionization/NCI – negative chemical ionization) and liquid chromatography (LC: ESI – electrospray ionization/nanoESI) techniques. The flexibility is further enhanced with the additional sample inlets such as atmospheric pressure chemical ionization (APCI) or direct sampling probes (DIP – direct insertion probe/DEP – direct exposure probe). A unique dual cart design is available on the 920-MS. This accommodates multiple instrument configurations, including electrospray and MALDI, with a single magnet.

The variety of ionization techniques applicable makes the 920-MS a prime choice for more complex applications such as environmental and petrochemistry.

The lecture discusses the capabilities of this novel instrumentation and illustrates selected applications to show the versatility of the instrument.

## Graffiti: caratterizzazione chimica di vernici spray e pennarelli indelebili

*I. van der Werf,\* F. Palmisano\*†, L. Sabbatini,\*†*

\*Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari; ivanderwerf@chimica.uniba.it

†Centro interdipartimentale “Laboratorio di Ricerca per la Diagnostica dei Beni Culturali”,  
Università degli Studi di Bari

I graffiti sono quasi sempre dannosi, ma quando si trovano sui Beni Culturali l'effetto può essere catastrofico. La loro rimozione, infatti, è generalmente difficile, in particolare quando si tratta di graffiti applicati con pennarelli indelebili. Tuttavia, anche se la loro pulitura crea seri problemi ai restauratori, la caratterizzazione dei materiali usati dai graffiti “writers” è ancora piuttosto incompleta.

Al fine di ottimizzare sia le tecniche di pulitura tradizionali (per via chimica o meccanica) che quelle innovative (migliorare la comprensione dei meccanismi coinvolti nel *laser cleaning*) è stato avviato uno studio sulla composizione dei graffiti. I leganti a base di polimeri sintetici, così come vari pigmenti, sono stati analizzati mediante spettroscopia infrarossa a trasformata di Fourier (FTIR) e pirolisi-gas cromatografia/spettrometria di massa (Py-GC/MS), vale a dire mediante tecniche analitiche che vengono ormai applicate con successo per la caratterizzazione di pitture moderne (1-3).

Sono stati studiati numerosi pennarelli indelebili e vernici spray disponibili in commercio, nonché alcuni campioni di graffiti prelevati da differenti substrati lapidei. Le tecniche analitiche impiegate si sono rivelate molto efficaci nella caratterizzazione di micro-campioni di graffiti ed hanno fornito i seguenti risultati. Le vernici spray metallizzate sono prevalentemente composte da poli( $\alpha$ -metilstirene-stirene) (p( $\alpha$ MSt-St)), mentre quelle non-metallizzate contengono principalmente poli(metilmetacrilato-n-butilmetacrilato) spesso in miscela con p( $\alpha$ MSt-St). I pennarelli indelebili sono stati suddivisi in varie tipologie in base ai pirogrammi ottenuti: i) ad emulsione a base di copolimeri (met)acrilico-stirene; ii) a base di resina chetonica (cicloesanone), iii) con pirogrammi di alchil-benzeni e/o alchilnaftaleni; iv) a base di poli(vinil-fenil-chetone) a volte in combinazione con fenoli.

Sono stati ottenuti risultati interessanti per i graffiti presenti su un monumento funerario dell'età del Bronzo (“Dolmen” di Bisceglie) che è stato poi sottoposto a pulitura mediante *laser cleaning* (4).

1. N. Sonoda, J.P. Rioux *Studies in Conservation* **1990**, 35, 189-204.
2. O. Chiantore, D. Scalarone, T.J.S. Learner *Int. J. Polym. Anal. and Char.* **2003**, 8, 1-16.
3. T.J.S. Learner, *Analysis of Modern Paints* **2004**, Los Angeles, Getty Conservation Institute.
4. G. Daurelio, F. Radina, O. De Pascale, *LACONA III (Florence 1999)*.

## Ricostruzione della tavolozza di un manoscritto illuminato del XIV secolo con tecniche non invasive

*M. Aceto*<sup>\*</sup>, *A. Agostino*<sup>+</sup>, *M. Gulmini*<sup>#</sup>, *E. Pellizzi*<sup>#</sup>, *V. Bianco*<sup>#</sup>, *S. Castronovo*<sup>§</sup>

<sup>\*</sup>Università del Piemonte Orientale, Dipartimento di Scienze dell’Ambiente e della Vita, via Bellini, 25/G - 15100 Alessandria

<sup>+</sup>Università di Torino, Dipartimento di Chimica Generale e Chimica Organica Applicata, c.so M. d’Azeglio, 48 - 10125 Torino

<sup>#</sup>Università di Torino, Dipartimento di Chimica Analitica, via P. Giuria, 5 - 10125 Torino

<sup>§</sup>Museo Civico di Arte Antica, p.zza Castello - 10123 Torino

In questo lavoro è stata effettuata la caratterizzazione della tavolozza impiegata per decorare un *Libro d’Ore* all’uso di Chalon-sur-Saône (Borgogna), databile al 1446-49, attualmente conservato presso il Museo Civico di Arte Antica - Palazzo Madama di Torino. Il manoscritto è decorato con dieci miniature a tutta pagina realizzate dal maestro Antoine de Lonhy, artista borgognone attivo nell’ultima parte della sua vita in Piemonte. Il testo mostra inoltre ricche decorazioni floreali sui bordi oltre ad alcune iniziali miniate.

La caratterizzazione della tavolozza è stata effettuata usando esclusivamente tecniche analitiche non invasive, in particolare la spettrofotometria UV-Vis in riflettanza diffusa, la spettrometria XRF e la spettroscopia Raman, impiegando strumentazioni portatili che hanno permesso di analizzare il manoscritto *in situ*, ovvero all’interno della sua collocazione naturale.

I risultati combinati delle tre tecniche hanno permesso di identificare quasi tutti i pigmenti usati dal miniatore, evidenziando in particolare alcune differenze tra la tavolozza impiegata da Lonhy per decorare le scene più grandi e quella impiegata per le decorazioni floreali.

È interessante mettere in evidenza il fatto che l’artista usò pigmenti più preziosi per decorare i particolari più significativi: ad esempio l’oro in conchiglia è stato usato per dipingere il manto giallo della Vergine, mentre oro mosaico (SnS<sub>2</sub>) e giallo di piombo e stagno tipo I sono stati impiegati per particolari meno importanti come l’erba, le rocce o altri dettagli del paesaggio. Il cinabro è stato usato esclusivamente per il sangue di Cristo, mentre il meno pregiato minio è presente per tutte le altre campiture rosse. Significativo è inoltre l’uso contestuale di oro in foglia, oro in conchiglia e oro musivo per ottenere particolari effetti di luminosità con pigmenti diversi.

I dati dell’analisi XRF, oltre a coadiuvare l’identificazione qualitativa dei pigmenti, mostrano la presenza di alcuni elementi che possono essere messi in correlazione alla provenienza dei pigmenti stessi. Il bario mostra una buona correlazione con il rame nelle campiture blu, mentre lo zinco è correlato con il rame nelle campiture verdi, suggerendo il ruolo di Ba e Zn come marcatori di provenienza per i pigmenti azzurrite e malachite.

Particolare attenzione è stata rivolta all’identificazione di ritocchi nelle miniature, evidente in alcuni cieli e in campiture scure che sono state attribuite, su base storico-artistica, ad argentature virate in seguito al marrone per degradazione naturale. Nel primo caso è stata trovata evidenza della presenza di blu di ftalocianina, pigmento artificiale di natura organica che permette di datare l’intervento a dopo il 1935. In altre aree ritoccate sembra evidente l’uso di altri pigmenti non moderni, suggerendo l’ipotesi che siano stati effettuati più ritocchi in epoche diverse.

# Una nuova metodologia analitica di microscopia immunochemiluminescente per l'identificazione e localizzazione di componenti proteici in multistrati pittorici

*L.S. Dolci\**, *G. Sciutto\*\**, *M. Guardigli\**, *R. Mazzeo\*\**, *A. Roda\**

\*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Bologna, Via Belmeloro 6, 40126 Bologna

\*\*Laboratorio Diagnostico di Microchimica e Microscopia, Università di Bologna, Via Tombesi dall'Ova 55, 48100 Ravenna

La caratterizzazione della complessa struttura polimerica di un dipinto si è ormai dimostrata indispensabile per studi inerenti tecniche esecutive e stato conservativo di opere pittoriche. Numerose sono le tecniche analitiche (microscopia FTIR, SEM-EDAX, microscopia Raman, ecc) comunemente impiegate per l'identificazione di componenti inorganiche (strati preparatori, pigmenti ecc) in grado di preservare indicazioni sulla loro distribuzione spaziale. Più problematica risulta la caratterizzazione di sostanze organiche presenti in strati pittorici, (puri o in miscela) impiegati come leganti e/o vernici. Le tecniche cromatografiche, risultano essere altamente specifiche, ma richiedono l'estrazione dell'analita dal campione, perdendo informazioni di tipo spaziale. D'altro canto, l'analisi tramite microscopia FTIR pur localizzando il composto (tramite caratterizzazione dei gruppi funzionali), perde di specificità identificando solo la classe a cui l'analita appartiene (materiale proteico, sostanze lipidiche, gomme, ecc.).

Il presente lavoro propone un nuovo approccio analitico per l'identificazione e la localizzazione stratigrafica in sezione lucida di ovalbumina tramite combinazione di metodologie immunoenzimatiche e "imaging" chemiluminescente (CL)<sup>1</sup>. L'ovalbumina, presente in stesure pittoriche a tempera d'uovo o impiegata come vernice, viene localizzata utilizzando un anticorpo policlonale anti-ovalbumina, rivelato mediante un secondo anti-anticorpo marcato con un enzima (perossidasi di rafano, HRP) ed un substrato enzimatico CL basato sul sistema luminolo, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e potenziatore. Il segnale CL viene acquisito mediante una camera CCD ultrasensibile collegata ad un microscopio ottico con una risoluzione spaziale dell'ordine del µm ed analizzato con un software di analisi d'immagine. L'efficacia del metodo analitico è stata testata su campioni standard preparati in laboratorio con l'impiego di miscela di tempera e dei più comuni pigmenti organici ed inorganici, al fine di valutare i differenti ruoli giocati dalla matrice polimerica. Infine, sono stati studiati campioni reali provenienti da una tavola policroma rinascimentale, attribuita a Nicolò Rondinelli, per la caratterizzazione dello strato di verniciatura finale.

1. L.S. Dolci, G. Sciutto, M. Guardigli, M. Rizzoli, S. Prati, R. Mazzeo, A. Roda *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, 1618-2642.

## Uno studio di spettroscopia fotoelettronica in risoluzione angolare di campioni di carta sottoposta ad invecchiamento artificiale

*D.Addari*, \* *D.Atzei*, \* *L.Campanella*<sup>†</sup>, *P.Calvini*<sup>§</sup>, *C.Costanza*<sup>†</sup>, *A.Gorassini*<sup>§</sup>, *A.Zappala*<sup>§</sup>, *A.Rossi*<sup>\*</sup>

\*Dipartimento di Chimica Inorganica ed Analitica, Università di Cagliari, SS 554 bivio per Sestu, I-09042 Monserrato (CA), Italy

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica, Università di Roma “La Sapienza”, Piazzale Aldo Moro 5, I-00185 Roma, Italy

<sup>§</sup>Ministero Beni Culturali, S.B.A.P., via Balbi 10, I-16126 Genova, Italy

<sup>§</sup>Dipartimento di Storia e Tutela dei Beni Culturali, Università di Udine, via Petracco 8, I-33100 Udine, Italy

[addari@unica.it](mailto:addari@unica.it); [rossi@unica.it](mailto:rossi@unica.it)

In questo lavoro sono presentati i risultati relativi ad una ricerca finalizzata ad aumentare la comprensione delle modificazioni che intervengono sulla cellulosa, da secoli usata come materiale base per la fabbricazione della carta e di tessuti, a causa dei trattamenti di invecchiamento artificiale e sviluppare un sensore di datazione della stessa. In particolare la spettroscopia di fotoelettroni a raggi X (XPS) è stata usata per caratterizzare la superficie di campioni di carta nello stato tal quale e dopo invecchiamento con tre metodi diversi: 1) con metaperiodato di sodio (tetraossoiodato (VII) di sodio) per 1 e 24 ore, completamento dell'ossidazione con acido cloroso; 2) con ipoclorito di sodio per 1, 3 e 24 ore; 3) con irraggiamento con luce UV per tempi crescenti in un veterometro a 45°C e 58% di umidità relativa.

Gli spettri del C1s e dell'O1s sono stati registrati con lo spettrometro Theta Probe sia nella modalità standard sia in risoluzione angolare. Entrambi i segnali sono la combinazione lineare di più componenti che sono state risolte adattando agli spettri sperimentali delle curve teoriche. Nel picco ad alta risoluzione del C1s sono stati identificati i contributi del C di tipo alifatico a 285.0 eV, del C dei gruppi OH della cellulosa a 286.7 eV e del C dei gruppi O-C-O a 288.1 eV. Nella carta ossidata è presente il C del gruppo COOH a 289.2 eV. I rapporti delle aree sono in ottimo accordo con i rapporti stechiometrici nel caso dei campioni nello stato tal-quale. Come indice di “invecchiamento” è stato scelto il segnale a 289.2 eV. L'attacco ossidativo determina l'apertura dell'anello nelle posizioni 2 e 3 [1].

I risultati XPS mostrano che il metodo 1 ossida efficacemente la carta per tempi di trattamento prolungati (24 ore). La percentuale di gruppi carbossilici misurata sui campioni di carta non invecchiata e su quelli trattati per 1 h e 24 h col metodo 2 è confrontabile entro l'errore sperimentale. I risultati dell'invecchiamento ottenuto con i primi due metodi chimici verranno confrontati con quelli ottenuti sui campioni di carta invecchiati nel veterometro, valutati anche con metodi enzimatici, fotochimica e di spettroscopia FT-IR. Tutti i metodi adottati si rivelano idonei per seguire le modificazioni che vengono indotte sulla superficie dei campioni in seguito ai diversi trattamenti di invecchiamento permettendo di constatarne l'efficacia.

Calvini P., Gorassini A., Luciano G., Franceschi E., *Vib. Spectrosc.* 40 (2006) 177-183

## **Analisi del degrado di paste vitree dei mosaici parietali della Basilica di San Lorenzo fuori le mura in Roma. Strategia di ricerca per nuovi metodi di consolidamento.**

*F. Napoleoni<sup>1</sup>, F. Valentini<sup>2</sup>, A. Diamanti<sup>2</sup>, L. Micheli<sup>2</sup>, C. Mazzuca<sup>2</sup>, F. Spaziani<sup>3</sup>, M. Proposito<sup>3</sup>, C. Creminini<sup>3</sup>, S. Lo Mastro<sup>4</sup>, A. Mottana<sup>4</sup>, D. Pitzalis<sup>5</sup>, C. S. Salerno<sup>6</sup>, G. Palleschi<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Beni Culturali Musica e Spettacolo, Via Columbia 1, 00133 Roma (Italy);

<sup>2</sup>Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Via della Ricerca Scientifica 1, 00133 Roma (Italy);

<sup>3</sup>ENEA C.R. Casaccia, Via Anguillarese 301, 00060 S. Maria di Galeria, Roma, (Italy);

<sup>4</sup>Università degli Studi di Roma Tre, Dipartimento di Scienze Geologiche, Largo S. Leonardo Murialdo 1, 00146, Roma, (Italy);

<sup>5</sup> Restauratrice privata;

<sup>6</sup>Istituto Centrale del Restauro, Sezione Calchi e Gessi, Via di S. Michele 23, 00153, Roma, (Italy).

Il presente studio è stato condotto su campioni di tessere vetrose di colore azzurro, provenienti dai pannelli musivi della *Cappella di Pio IX in San Lorenzo fuori le mura* a Roma, databili alla seconda metà del XIX secolo. Tali campioni, distaccatisi dal supporto, risultano interessati da fenomeni di erosione superficiale e microfratture da stress meccanico, individuati da un'indagine morfologica tramite microscopia elettronica a scansione (SEM). Per l'analisi della composizione elementare della matrice vetrosa sono state impiegate sia tecniche qualitative, quali la microanalisi in dispersione di raggi X (EDX) e la spettroscopia di fluorescenza X (XRF), sia quantitative come la spettroscopia di emissione ottica indotta dal plasma (ICP-OES)[1]. I risultati ottenuti mostrano la pregiata manifattura del vetro colorato, tale da escludere eventuali difetti di fabbricazione. Molto più probabilmente la causa del degrado andrebbe invece attribuita all'azione di fattori ambientali quali gradienti di temperatura e umidità relativa (misurati *in situ* mediante sensori portatili) responsabili del danno fisico-meccanico al supporto delle tessere[2], congiuntamente alla presenza di inquinanti aerodispersi (gas e particolato). Inoltre, è stata riscontrata anche l'evidenza di sali disciolti nella malta di allettamento delle tessere, mediante spettrofotometria infrarossa in trasformata di Fourier (FTIR) e misure di conducibilità accoppiate all'indagine in cromatografia ionica. Infine un'indagine quantitativa sulla composizione chimica della malta è stata condotta mediante ICP-OES.

Alla luce della problematica esposta, in questo lavoro verrà presentata una nuova strategia analitica di intervento che vedrà l'impiego di dispersioni a base di nanoparticelle di TiO<sub>2</sub> e polimeri siliconici (materiale nanocomposito), che potranno rappresentare una valida alternativa al tradizionale consolidamento di tessere vetrose deteriorate[3].

1. E. Cartolano, C. Fiori, N. Gabrielli, *Identificazione del degrado di alcune paste vitree del mosaico pavimentale medioevale della basilica di S. Giovanni Evangelista in Ravenna: ipotesi di intervento 1997*, Atti del V Colloquio dell'Associazione italiana per lo studio e la conservazione del mosaico, Roma, 127-140.
2. C. Fiori, M. Vandini, *Teoria e tecniche per la conservazione del mosaico 2002*, Il Prato Editore.
3. P. Baglioni, R. Giorni, *Soft and hard nanomaterials for restoration and conservation of cultural heritage 2006*, Soft Matter 2, 293-303.

## Studio XPS sulla stabilità di nanostrati di ossi-idrossidi su acciai privi di nichel

*M. Fantauzzi*,\* *C. F. Carta*, *B. Elsener*, *R. Biesuz*<sup>†</sup>, *G. Alberti*,<sup>†</sup> *A. Rossi*\*

\* Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica, Centro Grandi Strumenti, Università degli Studi di Cagliari, U.O. INSTM, Cittadella Universitaria di Monserrato – ss 554 bivio per Sestu – 09042

Monserrato (CA) [marzia.fantauzzi@dipcia.unica.it](mailto:marzia.fantauzzi@dipcia.unica.it); [rossi@unica.it](mailto:rossi@unica.it)

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica Generale via Taramelli 12 27100 Pavia (PV) [rbiesuz@unipv.it](mailto:rbiesuz@unipv.it)  
[galberti@univ.it](mailto:galberti@univ.it)

Le leghe tradizionalmente utilizzate in ortodonzia sono acciai inossidabili Ni-Cr. E' noto che circa il 10-15% delle donne adulte e l'1-3% dei maschi adulti in Europa sono allergici al nichel [1]. Si rende quindi necessario sostituire gli acciai Ni-Cr con una nuova generazione di acciai austenitici che non contengano nichel tra i costituenti.

In questo lavoro sono stati caratterizzati i film presenti su attacchi ortodontici commerciali ed inoltre è stata studiata la resistenza alla corrosione e la stabilità dei film superficiali che si formano su lastrine di acciaio *Ni-free* 1.4456, presa come lega modello, in una soluzione di saliva artificiale a pH 7.9 ed a temperatura ambiente per tempi di immersione compresi tra 1 e 24 ore. Le tecniche utilizzate sono di tipo elettrochimico (misure di potenziale di circuito aperto e di resistenza di polarizzazione) e di analisi di superficie (spettroscopia fotoelettronica a raggi-X), tradizionalmente impiegate dal gruppo di Analisi di Superfici, Elettrochimica e Corrosione dell'Università degli Studi di Cagliari per la caratterizzazione dei film passivi su acciai Fe-Cr-Ni [2-4] in differenti ambienti. L'acciaio 1.4456 è stato scelto poiché risulta avere la stessa composizione dei bracket ortodontici *Ni-free* Sprint<sup>®</sup> (Forestadent). Gli attacchi Sprint<sup>®</sup> (Forestadent) sono stati già oggetto di studi di rilascio di ioni metallici *in vitro* e *in vivo* da parte del gruppo di Chimica Analitica del Dip. Chim. Gen. dell'Università degli Studi di Pavia. La struttura austenitica dell'acciaio privo di nichel è garantita dalla presenza del manganese. I test elettrochimici hanno consentito di osservare che, nelle condizioni operative scelte, sulla superficie della lega si forma un film passivo, come dimostrato dal fatto che la corrente di corrosione diminuisce col tempo di esposizione, raggiungendo dopo 24 ore, un valore inferiore a 0.2  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  caratteristico di metalli e leghe allo stato passivo. Mediante l'analisi di superficie è stato possibile studiare la composizione del film passivo, il quale è costituito da ossidi e idrossidi di ferro(III), di cromo(III) e di manganese. Col tempo di immersione lo spessore del film aumenta, il tenore del Fe(II) nel film di ossido diminuisce e l'idrossido di cromo aumenta, indicando una progressiva ossidazione ed idratazione del film passivo per tempi di immersione prolungati e la formazione di un film sempre più protettivo. I risultati ottenuti saranno confrontati con i risultati delle prove di rilascio eseguite sugli attacchi.

1. C. Lidén, M. Bruze and T. Menné, Metals. In: R.J.G. Rycroft, T. Menné, P.J. Frosch and J.-P.
2. Lepoittevin, Editors, Textbook of contact dermatitis (3rd ed.), Springer, Heidelberg (2001), 935-977
3. B. Elsener and A. Rossi, *Mat. Science Forum*, **1995**, 192-194, 213
4. A. Rossi and B. Elsener, *Mat. Science Forum*, **1995**, 185-188, 337 - 346
5. D. Addari, B. Elsener, A. Rossi, *Electrochim. Acta*, **2008**, doi:10.1016/j.electacta. 2008.06.007

## Sviluppo di un metodo chemiluminescente per la determinazione di esplosivi a base di perossidi

*P. Caputo\**, *E. Maiolini\**, *E. Ferri\**, *G. Guarnieri†*, *F. Greci†*, *S. Girotti\**.

\*Dipartimento di Scienze dei Metalli, Elettrochimica e Tecniche Chimiche, Università di Bologna, Via San Donato 15, 40127 Bologna, Italia.

†Labo-Scientifica s.r.l., via L. Borsari 23/A, 43100 Parma, Italia

TATP (Triacetone triperossido) e HMTD (esameten diammino triperossido) sono esplosivi che contengono gruppi a base di perossidi (1). Questa caratteristica è responsabile della loro instabilità e del loro uso frequente in attacchi terroristici grazie alla semplicità di sintesi, che richiede, come reagenti, composti facilmente reperibili in qualsiasi supermercato, e può quindi essere eseguita con facilità anche da persone non esperte (2). Questi esplosivi di solito sono analizzati con tecniche cromatografiche, secondo il metodo EPA 8330 N (3). Tuttavia, questa metodologia non può essere utilizzato in loco per analizzare immediatamente la scena di un'esplosione. Esistono anche altri metodi per individuare gli esplosivi, attraverso reazioni spettrofotometriche e fluorescenti, ma con una scarsa sensibilità e la possibilità di falsi positivi (4, 5). Il presente metodo chemiluminescente prevede l'identificazione indiretta degli esplosivi a base di perossidi; i composti sono trattati con soluzioni acide, in questo modo si ottiene la decomposizione e la formazione di radicali perossidi, che sono quantificati mediante una reazione con luminolo in presenza di perossidasi di Rafano (HRP) come catalizzatore. Il metodo sviluppato presenta buoni valori di limite di rivelazione (LOD) 0,5  $\mu\text{M}$  per TATP e 1  $\mu\text{M}$  per HMTD, con intervallo di applicazione da 0,5  $\mu\text{M}$  a 4  $\mu\text{M}$  per TATP e da 0,25  $\mu\text{M}$  a 8  $\mu\text{M}$  per HMTD. Il metodo è stato inizialmente sviluppato per l'uso mediante micropiastre per luminometro, e in seguito ottimizzato per un luminometro portatile, al fine di consentirne l'applicazione anche sul campo. Questo è importante nel contesto di immediata individuazione della presenza di questi composti in scene di esplosione, dove analisi veloci e semplici sono necessarie data anche la forte volatilità dei composti. L'analisi è stata applicata a campioni di suolo e superficie mediante aggiunta di standard. Il metodo ha mostrato un recupero di campioni contenenti TATP e HMTD del 50% per i suoli, del 70% per le superfici e un'elevata specificità, non presentando alcun falso positivo nei campioni di controllo.

*Ringraziamenti: Il presente lavoro è stato svolto nell'ambito del progetto PRIN 2006-0033429: "Nuovi strumenti analitici per la sicurezza e le indagini: determinazione di tracce di esplosivi e composti correlati". Il nucleo di polizia scientifica di Bologna in particolare il dott. Marcello D'Elia per i campioni forniti.*

1. Keinan and H. Itzhaky; *US Patent* 6,767 2004, n° 717.
2. R. Wolfenstein, *Chem. Ber.* **1895**, 28, 2265–2269.
3. A. B. Crockett, H. D. Craig, T. F. Jenkins, W. E. Sisk, *EPA/540/S-97/501* **1996**.
4. R. Schulte-Ladbeck, P. Kolla, U. Karst, *The Analyst* **2002**, 127, 1152-1154.
5. R. Schulte-Ladbeck, P. Kolla, U. Karst, *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 386, 559–565.

# **Caratterizzazione elettrochimica e spettroscopica di un sensore nanostrutturato per la determinazione amperometrica dell'acqua ossigenata**

*M.R. Guascito, C. Malitesta, D. Chirizzi*

Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università del Salento, Via Arnesano, 73100 Lecce  
maria.rachele.guascito@unile.it

I sistemi nanostrutturati vanno rivestendo una crescente importanza nel panorama scientifico grazie alla specificità delle loro proprietà ottiche, elettroniche e catalitiche che li caratterizzano, dovute principalmente alle loro dimensioni su scala nanometrica. Tra le varie applicazioni, in campo analitico, sono stati proposti elettrodi chimicamente modificati con nanoparticelle di metalli od ossidi di metalli, in quanto ne migliorano le proprietà, in termini di sensibilità e limiti di rivelabilità, permettendo anche la possibilità di realizzare dispositivi miniaturizzati, esigenza sempre più stringente in molteplici ambiti analitici. Tuttavia, tale approccio è stato utilizzato solo in pochi casi per la rivelazione dell'acqua ossigenata [1-3] che rappresenta, come è noto, un analita di interesse in diversi ambiti come per esempio quello ambientale, farmaceutico, clinico e industriale. In questo lavoro è stato proposto un nuovo sensore amperometrico nanostrutturato per la determinazione analitica dell'acqua ossigenata. Tale dispositivo è stato ottenuto immobilizzando nanoparticelle di argento disperse in un film di poli(vinil alcool) (PVA) su un elettrodo di platino per "drop casting" di nanoparticelle di argento sintetizzate in una sospensione di PVA. La caratterizzazione completa delle nanoparticelle disperse in PVA è stata fatta mediante spettroscopia UV-Visible, Diffrazione a Raggi-X (XRD), Microscopia Elettronica in Trasmissione (TEM) e Voltammetria Ciclica (CV). In particolare gli esperimenti in CV hanno messo in evidenza che le particelle di argento nanostrutturate disperse nel film di PVA facilitano la riduzione dell'acqua ossigenata, in tampone fosfato a pH 7, rispetto sia all'elettrodo di platino nudo che all'elettrodo di platino modificato con PVA, mostrandone la eccellente attività catalitica. Il caratteristico picco in riduzione relativo alla riduzione dell'acqua ossigenata è presente a -550 mV vs SCE. Le misure in cronoamperometria hanno inoltre mostrato che la risposta amperometrica del sensore all'acqua ossigenata, nelle condizioni sperimentali usate, è strettamente dipendente dal tempo di vita delle nanoparticelle: sono stati infatti condotti esperimenti utilizzando soluzioni di nanoparticelle rispettivamente appena preparate e dopo 4 e 8 giorni dalla preparazione. In particolare i risultati ottenuti, relativamente alla determinazione dell'acqua ossigenata per ciascuna tipologia di elettrodo testato, in termini di limiti di rivelabilità, range lineare, sensibilità e RSD, mostrano che le caratteristiche analitiche di questi sensori li rendono adatti per la determinazione quantitativa dell'acqua ossigenata.

## Progettazione e performance di una nuova cella a flusso ciclonico per laser ablation

*D. Monticelli,<sup>\*</sup> R. Hergenröder,<sup>†</sup> E. L. Gurevich,<sup>†</sup> C. Dossi<sup>\*</sup>*

<sup>\*</sup> Università degli Studi dell'Insubria, Dipartimento di Scienze Chimiche e Ambientali, via Valleggio 11, 22100 Como, Italy, damiano.monticelli@uninsubria.it

<sup>†</sup> ISAS—Institute for Analytical Sciences, Bunsen-Kirchhoff Str.11, 44139 Dortmund, Germany

L'accoppiamento di un sistema di campionamento tramite ablazione laser alla spettrometria di massa con sorgente al plasma (LA-ICP-MS) rappresenta uno strumento ideale per l'analisi elementare di campioni solidi. Il sistema di campionamento tramite ablazione laser garantisce infatti un'elevata risoluzione spaziale, mentre la spettrometria di massa con sorgente al plasma permette di raggiungere limiti di rivelabilità estremamente bassi. In particolare, l'impiego di laser con impulsi nel campo dei femtosecondi garantisce una maggiore stabilità del processo di ablazione e una più elevata risoluzione spaziale, permettendo una rapida mappatura della composizione superficiale di virtualmente ogni campione solido.

Il trasporto dell'aerosol prodotto dal laser dal punto di campionamento alla torcia al plasma limita tuttavia fortemente sia le performance analitiche in termini di rapporto segnale/rumore che il tempo necessario per effettuare la mappatura completa della superficie oggetto di indagine. In generale, una cella per laser ablation deve garantire la rimozione dell'aerosol prodotto dal laser in modo rapido ed efficiente impedendo il contatto del particolato con le pareti della cella stessa per evitare fenomeni di rideposizione. La durata tipica del segnale di un analita registrata tramite ICP-MS è di diversi secondi o anche decine di secondi per celle convenzionali, mentre l'efficienza, vale a dire la percentuale di materiale trasportata alla torcia rispetto a quella prodotta dalla ablazione, raggiunge nel migliore dei casi valori prossimi all'80%.

Scopo della presente ricerca, condotta presso Institute for Analytical Sciences (ISAS, Dortmund) è la progettazione, caratterizzazione e applicazione analitica di una nuova cella per ablazione laser che combina un flusso ciclonico con un ugello di estrazione del particolato. Il gas di trasporto viene introdotto tangenzialmente in una cella cilindrica: con questa configurazione geometrica, il gas fluisce in modo spirale e laminare dalla parete interna della cella verso il centro dove è posizionato un ugello che estrae il particolato. Questa geometria presenta quindi il duplice vantaggio di trasportare velocemente il particolato fuori dalla cella e di evitarne il contatto con le pareti della cella stessa. In fase di caratterizzazione la cella, condotta analizzando un campione di ottone standard ha evidenziato ottime performance, raggiungendo un'efficienza del 100% con un tempo di evacuazione dell'ordine di 30 ms, il più basso registrato ad oggi. Il sistema LA-ICP-MS con la cella a flusso ciclonico è stato utilizzato per ottenere i profili di  $^{13}\text{C}$ ,  $^{23}\text{Mg}$ ,  $^{44}\text{Ca}$  e  $^{208}\text{Pb}$  in una carota di legno. L'ottima risoluzione spaziale garantita dal bassissimo tempo di evacuazione ha permesso di evidenziare la distribuzione disomogenea di questi elementi nelle porzioni di legno prodotte nelle diverse stagioni.

# Supporti immuno-magnetici per il trattamento del campione per tecniche ELISA e LC-MS/MS. Determinazione di allergeni nascosti in alimenti

F. Speroni, M. Terenghi, L. Elviri, M. Careri, A. Mangia

Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università degli Studi di Parma, V.le Usberti 17/A, 43100, Parma

La disponibilità di metodi analitici accurati e sensibili per l'identificazione e la determinazione di allergeni nascosti negli alimenti è di fondamentale importanza nell'ambito della sicurezza alimentare. L'attività di ricerca svolta in tale contesto ha riguardato lo sviluppo di metodi analitici di screening che di conferma, basati sull'impiego di tecniche immunoenzimatiche e di spettrometria di massa (1-2).

Nel presente lavoro l'interesse è stato rivolto allo sviluppo di un metodo di arricchimento del campione altamente selettivo per l'estrazione della proteina allergenica dell'arachide Ara h3/4 da campioni complessi, al fine di proporre una strategia di estrazione comune per metodi di screening e per metodi di conferma, riducendo al contempo potenziali effetti matrice in grado di diminuire la sensibilità e la selettività dei metodi. A questo scopo sono stati impiegati supporti magnetici funzionalizzati con proteina A e anticorpi monoclonali come reagenti di cattura selettiva. Sono stati valutati diversi parametri per la funzionalizzazione del supporto magnetico, quali la concentrazione degli anticorpi, il tempo di incubazione e la presenza di agenti di cross-linking. È stato quindi messo a punto il protocollo di estrazione della proteina Ara h3/4 da estratti di prodotti a base di cereali valutando il tempo di incubazione, il volume e la concentrazione del campione. Gli estratti arricchiti sono quindi stati analizzati sia mediante un saggio ELISA sviluppato direttamente sul supporto magnetico e con rivelazione colorimetrica sia mediante un metodo di conferma LC-IT-ESI-MS/MS (3). Nel caso dell'analisi LC-MS/MS, gli estratti arricchiti sono stati sottoposti a digestione triptica assistita da microonde per l'analisi di peptidi biomarker (1). L'impiego del supporto magnetico ha permesso di ottenere una digestione completa della proteina in tempi molto rapidi (1min), rendendo il metodo di trattamento del campione notevolmente più veloce rispetto a quanto riportato in letteratura (4-12 h). Inoltre, sono stati ottenuti eccellenti risultati sia in termini di limite di rivelazione (3 mg arachide/kg matrice) sia in termini di riduzione significativa dell'effetto matrice rispetto all'analisi di un estratto non trattato. Il metodo ELISA ha presentato valori di LOD (1 mg arachide/kg matrice) e linearità (0-25 ppm) confrontabili con i kit disponibili in commercio. L'applicabilità dei metodi ELISA e LC-MS/MS con il trattamento del campione su supporto magnetico è stata infine verificata analizzando un significativo numero di prodotti a base di cereali.

*Il lavoro è stato realizzato con il contributo del MIUR: progetto PRIN 2005 "Development of innovative methods for the analysis of food products" e progetto PRIN 2006 "Integration of innovative separation and mass spectrometry methods for a next generation proteomics".*

1. M. Careri, A. Costa, L. Elviri, J. Boquett Lagos, A. Mangia, M. Terenghi, A. Cereti, L. Perono Garoffo *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 389, 1901.
2. M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, C. Mucchino, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 387, 1851.
3. M. Careri, L. Elviri, J. Boquett Lagos, A. Mangia, F. Speroni, M. Terenghi, *J. Chromatogr. A* sottoposto alla pubblicazione

OPR-BA\_2

## **HPIC-PED Una tecnica cromatografica ad Alta risoluzione per lo studio delle glicoproteine**

*F. Abballe*

Dionex SpA Via XXV Aprile 6, 20097 San Donato Milanese MI  
franco.abballe@dionex.com

L'importanza dei carboidrati nella biochimica è andata aumentando negli ultimi anni dopo le numerose scoperte relative al loro ruolo. Nel passato si riteneva che i carboidrati avessero semplicemente un ruolo metabolico-strutturale. Si sa oggi che i carboidrati e quindi la loro complessità strutturale hanno un ruolo fondamentale nelle interazioni cellulari ( infezioni infiammazioni), nella struttura di anticorpi monoclonali. La specificità di un vaccino dipende dal saccaride legato alla proteina. Nella moderna produzione di vaccini e anticorpi monoclonali non si può prescindere da uno stretto controllo delle catene oligosaccaridiche e dei monosaccaridi che le compongono. L'interesse quindi per la composizione dei carboidrati e la loro analisi quali quantitativa è elevato nella ricerca e controllo qualità dei biofarmaci.

La cromatografia a scambio ionico ad alto pH è uno dei mezzi più potenti nella separazione di mono di e polisaccaridi da DP 1 a DP 90 sia neutri che carichi. La selettività delle fasi polimeriche a scambio anionico nei confronti dei carboidrati è elevatissima e si accoppia ad una altrettanto alta efficienza cromatografica delle moderne fasi. Tale selettività opera in base al peso, carica, ramificazione, isomeria di legame, anomeria, sializzazione. La separazione su SAX polimeriche è perfettamente compatibile con la rivelazione in Amperometria Pulsata su elettrodo d'Oro. Difatti uno dei problemi dei carboidrati è la loro scarsa risposta sui rivelatori classici come UV, IR, forniscono invece una potente risposta anodica su elettrodi metallici che consente una sensibilità di rivelazione assai elevata.

Principi cromatografici e tecnica di rivelazione elettrochimica vengono illustrate in questa trattazione. Una breve descrizione di studi su Anticorpi Monoclonali e "Profiling" sono portati a titolo di esempio applicativo illustrando tutte le fasi dove la tecnica descritta può intervenire con successo.

## Utilizing Discovery Data to Expedite Targeted Protein Quantitation Methods

*G. Vago, M. Scigelova<sup>1</sup>, S. Peterman<sup>2</sup>, A. Prakash<sup>2</sup>, M. Lopez<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany

<sup>2</sup>Thermo Fisher Scientific, Somerset, NJ

<sup>3</sup>BRIMS Center, Cambridge, MA

Considerable number of proteomics laboratories utilize LTQ-based platform for initial screening of proteins, peptides and expression levels, rendering a list of protein biomarker candidates that must be further validated. From these discovery experiments, a wealth of knowledge and thousands of MS and MS/MS spectra have been accumulated which can be used to direct more selective SRM-based analyses. We present here the targeted quantitation workflow incorporating software and libraries that identify optimal peptide and product ions to be used in a subsequent SRM assay. The addition of top two or three product ions not only increases the selectivity for identifying the targeted peptide, but can dramatically increase the detection and quantification capabilities if the resulting method. In our observations, utilizing product ion abundancies from LTQ-based experiments provides a higher probability of matching the most abundant SRM transition than relying on a rule-based approach.

## Nuove applicazioni iTRAQ in proteomica

*A. Palmese, G. Chiappetta, C. Corbo, G. Marino, A. Amoresano*

Dipartimento di Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italy

Several labelling strategies have been developed to target specific amino acid residues and/or post translational modifications (PTMs) enabling the enrichment of subfractions via affinity clean-up. The presence of phosphorylation, glycosylation, nitration, and specific types of oxidation are examples of PTMs that can be targeted.

Stable isotope methods have been introduced into MS-based proteomics to allow relative changes in protein expression to be determined. The principle of these methods is the incorporation of a stable isotope derivative in one of the states to be compared. Stable isotope incorporation shifts the mass of the peptides by a predictable amount. The ratio of analyte between the two or more states can then be determined accurately by the measured peak ratio between the heavy and light derivatized samples.

A novel methodology for quantitative analysis by mass spectrometry makes use of iTRAQ (acronym for Isobaric Tag for Relative and Absolute Quantification) technology, a newly developed method by Applied Biosystems for relative and absolute quantification of proteins. The iTRAQ reagents are specifically reactive towards primary amino groups (namely N-terminal of proteins and peptides and  $\epsilon$ -amino groups of lysine) and marketed in four different forms called iTRAQ 114, 115, 116 and 117, depending of m/z value of reporter group. The iTRAQ reagents allow the simultaneously multiplexed analysis of four or eight samples.

So far the iTRAQ chemistry has been limited to primary amines. We are planning to wide the chemistry of the reagent to address quantification of function of other than primary amines by taking advantage of the experience made with dansyl chemistry. In fact, our group has already reported a new approach involving dansyl chloride labelling of the nitration sites that rely on the enormous potential of MS<sup>n</sup> analysis. Here we report a new strategy based on the use of iTRAQ reagents coupled to mass spectrometry analysis for the selective labelling of phosphorylation and nitration sites. This method was proved to lead to the simultaneous localisation and quantification of modified sites both in model proteins and in biological systems.

This derivatization introduces an iTRAQ moiety that fragments according to previous data. Using the great capabilities of a new hybrid mass spectrometer equipped with a linear ion trap analyzer, one can take advantage of the distinctive m/z 114-117 and m/z 145 fragments in MS<sup>2</sup>.

# Multiplexed glycoproteomic analysis of glycosylation disorders by sequential IgY immunoseparation and MALDI TOF MS

*L. Sturiale<sup>1</sup>, R. Barone<sup>1,2</sup>, A. Messina<sup>1</sup>, A. Palmigiano<sup>1</sup>, D. Garozzo<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ICTP-CNR, Catania – Italy

<sup>2</sup>Centre for Inherited Metabolic Disease, University of Catania, Catania-Italy

The physiological roles of glycan structures in the fine-tuning of multiple biological processes is depicted in the congenital disorders of glycosylation (CDG) clinical spectrum which is broad and virtually involves all organ systems.

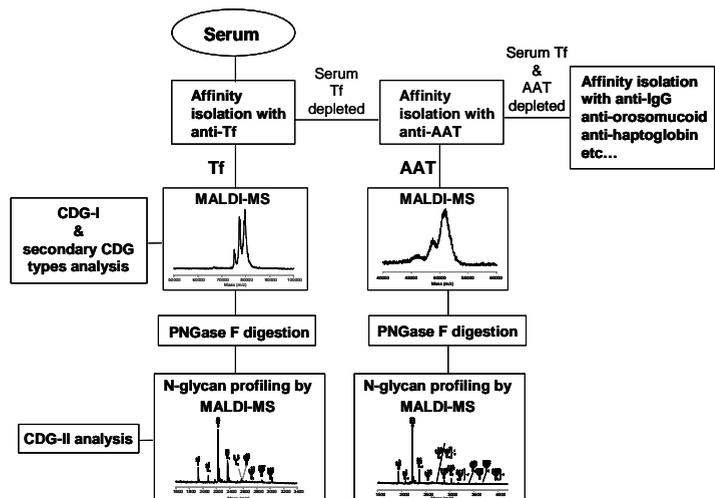
A major challenge in CDG research concerns the possibility to screen different native intact glycoproteins for their possible macroheterogeneity due to site glycosylation underoccupancy which is mandatory for characterization of CDG-I defects. In addition, the investigation of glycoprotein microheterogeneity (structural abnormalities of N-glycan structures at glycosylation sites) is required for detecting CDG-II disorders.

Glycoproteomics of CDG and secondary glycosylation disorders such as galactosemia (GALT deficiency) and hereditary fructose intolerance or HFI, is aimed to investigate glycosylation changes of proteins with the following purposes: 1) biomarker detection for diagnosis and treatment monitoring (whenever possible); 2) characterization of defective glycan structures to pinpoint possible enzyme/gene defects in patients with unknown basic defect; 3) insight into the pathogenesis by elucidating structure-function relationships.

We applied IgY immunoaffinity separation and MALDI MS for clinical proteomics of post-translational modification

(glycosylation) as schematised in figure, with the aim to set up a high-throughput method to analyze macroheterogeneity and microheterogeneity of protein glycoforms.

The method was validated by the analyses of human underglycosylated serum glycoproteins in CDG-I, CDG-II and secondary glycosylation disorders and applied for biomarker detection in the diagnostic procedure (CDG-I and II) and treatment monitoring (galactosemia and HFI).



## **Analysis of sweet orange flesh proteome at ripening time and comparison with transcriptomic data**

*V. Muccilli* \*, *V. Cunsolo* \*, *R. Saletti* \*, *C. Licciardello* \*\*, *D. Fontanini* \*\*\*, *M. P. Russo* \*\*, *G. Reforgiato Recupero* \*\*, *S. Foti* \*

\* Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Catania, V.le A. Doria 6, 95126, Catania (Italy)

\*\* C.R.A.-Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Corso Savoia 190, 95024 Acireale (Italy)

\*\*\* Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, Via L. Ghini 5, 56126 Pisa (Italy)

In Italy the sweet orange production is characterized by red pigmentation, due to the anthocyanin content. On citrus mature fruits anthocyanins are exclusively expressed in blood oranges and its hybrids.

The characterization of proteins isolated from flesh orange tissue is apparently an essential parameter for understanding orange anthocyanin pigmentation at ripening time.

In this work we present the analysis of a nucellar line of Moro (a blood cultivar) and Cadenera (a common orange) flesh orange using a proteomic approach.

For the first time we succeeded in extracting the whole citrus flesh proteome following a procedure based on phenol extraction coupled with ammonium acetate precipitation.

Proteome maps obtained by 2D electrophoresis were compared to assess the extent to which protein distribution differs in orange flesh ripe of blood pigmented and common cultivar.

The tryptic digest of the spots differential expressed in the blood (23 spots) and in common oranges (39 spots) were characterized by LC-MSMS and the proteins were identified by searching protein and EST databases.

Proteins involved in stress response (chaperones) and primary metabolism were identified as being over-expressed in Cadenera flesh. Proteins involved in the secondary metabolism, such as anthocyanin's pathway, defence mechanism and primary metabolism were identified over-expressed in Moro cultivar.

Results obtained through proteomic analysis were compared with a previous investigation performed using a transcriptomic approach (Licciardello et al., 2008, *Tree Genetics & Genomes* 4: 315-331) using a subtracted cDNA library. The comparison with transcriptomic studies evidenced some discrepancies, confirming the necessity to carry on proteomic analysis and to go deeper in the analysis of protein posttranscriptional and translational modifications.

This combined study may reveal the need to associate both methodology approaches to have a general and complete perspective for the specific analysed challenge.

## **Advances in MALDI MS Imaging using the 4800 Plus MALDI TOF/TOF™ Analyzer**

*M. Glueckmann<sup>1</sup>, F. Abdi<sup>2</sup>, G. Impey<sup>2</sup>, H. M. Snijders<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Applied Biosystems, Darmstadt, Germany

<sup>2</sup>Applied Biosystems, Framingham, USA.

<sup>3</sup>Applied Biosystems, Nieuwerkerk, the Netherlands

The emerging technique of MALDI MS imaging (MSI) offers the potential of profiling biomolecules directly on tissue samples. The technique involves mounting a thinly sliced tissue section onto a sample plate and applying MALDI matrix directly on top of the tissue. A two dimensional array of MALDI mass spectra is obtained, each with a location component. From this an ion intensity map is produced for any mass that is detected over the scanned area. Tissue samples can range from a small section of tissue through to whole organs or even the whole animal. MALDI MSI offers a number of advantages over other imaging technologies:

- The sample is analyzed directly
- No extraction of compounds is required
- No labeling of the sample is needed

The 4800 Plus MALDI TOF/TOF™ Analyzer is an ideal instrument for tissue imaging.

- Opti-Beam™ on-axis laser system provides unsurpassed sensitivity with a fast 200 Hz firing rate
- On-axis ionization combined with unique heated source increase sensitivity and minimizes source contamination
- Large format target plate allows large tissue sections to be imaged
- Powerful, industry standard TissueView 1.0 data processing software for image analysis and processing.

Datasets will be presented related the MALDI imaging in linear mode, reflector mode and MSMS mode. Application examples for different types of analytes as lipids, peptides and proteins but also small molecules analyzed using the 4800 Plus MALDI TOF/TOF™ Analyzer will be presented. Improved, high resolution imaging results could be obtained. Minimized analyte delocalization is achieved by careful optimization of sample preparation using new sample holders and inserts and by application of matrix with reproducible and optimized parameters using a robotic Tissue MALDI Sample Preparation System.

## Studio MALDI-ToF-MS del profilo peptidico urinario per la ricerca di biomarker in soggetti con cancro alla prostata: analisi dei fattori critici

*C. D. Calvano\**, *A. Aresta\**, *M. Iacovone\**, *F. Palmisano\**, *C. G. Zambonin\**, *C. Bettocchi<sup>†</sup>*

Dipartimento di Chimica e Centro Interdipartimentale SMART, Università degli Studi di Bari, Via Orabona 4, 70125, Bari; email: [calvano@chimica.uniba.it](mailto:calvano@chimica.uniba.it);

<sup>†</sup>Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti di Organi, Policlinico - P.zza Giulio Cesare - 70124 BARI

L'adenocarcinoma della prostata (PCa) è la forma di cancro maggiormente diagnosticata negli uomini in Europa e negli Stati Uniti. Attualmente, per la diagnosi e il monitoraggio di questa forma di cancro viene utilizzato come marcatore l'*antigene prostatico specifico* (PSA), una serina proteasi prodotta dall'epitelio prostatico. Infatti, mentre in un soggetto sano il livello di PSA nel sangue è molto basso (circa 4 ng/ml), in presenza di un tumore localizzato esso tende ad aumentare notevolmente. Tuttavia, il PSA è un marcatore non tumore-specifico, in quanto altri fattori come l'iperplasia nodulare benigna o prostatica, la prostatite, l'infarto prostatico, la manipolazione strumentale della prostata e l'eiaculazione aumentano i livelli di PSA sierico. Alla luce di queste considerazioni, nonostante gli attuali miglioramenti nell'interpretazione dei livelli di PSA, diventa necessario identificare ulteriori marcatori biologici che, assieme al dosaggio del PSA, forniscano gli strumenti per una diagnosi precoce e specifica del cancro alla prostata. L'analisi del proteoma dei fluidi biologici tramite spettrometria di massa rappresenta un valido mezzo di indagine non invasiva per individuare potenziali biomarkers per tutta una serie di patologie e disfunzioni dell'apparato escretore e degli organi della riproduzione [1,2]. In particolare, l'analisi del profilo del peptidoma urinario[3], generato per proteolisi naturale e non per tripsinizzazione, tramite spettrometria di massa MALDI-ToF potrebbe rappresentare un potente e rapido mezzo per diagnosticare il PCa in seguito all'individuazione di nuovi biomarker specifici o di profili peptidici caratteristici. Una corretta indagine non può prescindere dall'utilizzo di adeguate condizioni di prelievo, conservazione e preparazione del campione [4], fondamentali per ottenere dati che non siano falsati dalla presenza negli spettri di massa di picchi aspecifici. A tale scopo, la prima parte del lavoro è stata dedicata allo sviluppo di un metodo per controllare le tre maggiori fonti di variabilità: fattori pre-analitici, analitici e biologici [5]. In particolare, l'influenza di queste variabili sul profilo peptidomico urinario è stata studiata mediante analisi MALDI-ToF-MS e successiva analisi delle componenti principali (PCA). Una volta ottimizzato il protocollo di conservazione e preparazione dei campioni, è stato effettuato lo studio dei profili peptidici (range di massa investigato: 1000-12000 Da) generati in seguito ad analisi di urine di donatori sani e di soggetti affetti da PCa. Dal relativo confronto è stata evidenziata la presenza di alcuni peptidi caratteristici nelle urine dei soggetti malati che potrebbero rappresentare potenziali biomarker per la diagnosi precoce di tale malattia. Ulteriori indagini sono in atto per identificare tali peptidi e validare questi risultati.

1. M. E. Wright, D. K. Han, R. Aebersold *Mol. & Cell. Prot.* **2005**, *4*, 4, 545-554.

2. M.A.Rogers, P.Clarke, J. Noble, N.P.Munro, A. Paul, P.J.Selby, R.E.Banks *Can. Res.* **2003**, *63*, 6971-6983.

3. D. Theodorescu, H. Mischak *World J Urol* **2007**, *25*, 435-443.

4. V. Thongboonkerd. *J. of Proteome Res.* **2007**, *6*, 3881-3890.

5. M. West-Nørager, C. Dahl Kelstrup, C. Schou, E.V. Høgdall, et al. *J. of Chrom. B* **2007**, *847*, 30-37.

## Differential protein profiling analysis of intestinal epithelial cells by LC ESI/QTOF mass spectrometry

*P. Nanni,\* L. Mezzanotte,\* G. Roda,† F. Levander,# P. James,# E. Roda,† A. Roda\**

\*Department of Pharmaceutical Sciences, University of Bologna, Via Belmeloro 6, 40126 Bologna; [paolo.nanni@unibo.it](mailto:paolo.nanni@unibo.it)

†Department of Internal Medicine and Gastroenterology, Pol. S.Orsola-Malpighi, Bologna

#Protein Technology, Lund University, BMC D13, Lund, Sweden

The development of new mass spectrometry protein profiling strategies is a fundamental step for the discovery, identification, quantification and validation of disease related alterations of protein abundance in clinical samples. A methodological approach for the study of variations in the protein expression profiles of intestinal epithelial cells (IECs) isolated from surgical specimens from healthy donors (H) and Crohn's disease patients (CD) is described, with the ultimate goal to develop clinically relevant biomarkers of the specific disease status in individual patients and to identify potential targets for therapeutic intervention.

The method is based on a label-free LC ESI/QTOF differential MS approach combined with targeted MS/MS analysis of only identified differences.

Nuclear, cytosolic, membrane and cytoskeletal proteins were extracted from IECs. For each fraction from both H and CD samples monodimensional gel-electrophoresis was performed. The lanes were divided into slices and the proteins were subjected to tryptic digestion. The resulting peptides were analysed in triplicate by reverse phase-LC ESI/QTOF MS and the LC MS runs were aligned with msInspect software [1]. The differentially expressed peptides in the compartments were then statistically evaluated by PROTEIOS open-source software [2] and identified by RP-LC ESI/QTOF MS/MS analysis followed by database search.

The preliminary results obtained by the analysis of the subcellular fractions of IECs from CD patients and H donors allowed us to find many proteins involved in the inflammation processes. Follow-up studies for the validation of the results and the in-depth investigation of the inflammation pathways involved in the disease will be performed.

1. Bellew M.; Coram M.; Fitzgibbon M.; Igra M.; Randolph T.; Wang P.; May D.; Eng J.; Fang R.; Lin C.W.; Chen J.; Goodlett D.; Whiteaker J.; Paulovich A.; McIntosh M. *Bioinformatics* **2006**, *22*, 1902–1909. Free available at <http://proteomics.fhcrc.org>
2. Gärdén P.; Alm R.; Häkkinen J. *Bioinformatics* **2005**, *21*, 2085-2087.

## Un approccio integrato alla caratterizzazione lipoproteomica del siero umano

*A. Zattoni*,\* *D. C. Rambaldi*,\* *P. Reschiglian*,\* *A. Amoresano*,<sup>†</sup>  
*G. Chiappetta*,<sup>†</sup> *D. Donnarumma*,<sup>†</sup> *G. Marino*,<sup>†</sup> *C. Johann*,<sup>‡</sup>

\*Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università di Bologna, via Selmi 2, 40126 Bologna.

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica Organica e Biochimica, Università Federico II di Napoli.

<sup>‡</sup>Wyatt Technology Europe GmbH, 56307 Dernbach, Germany.

Il monitoraggio delle lipoproteine (LP) del siero riveste una notevole importanza diagnostica in quanto è noto che anomalie dei livelli lipidici e lipoproteici sono correlate all'insorgere di malattie cardiovascolari (*Coronary Artery Diseases*, CAD). Nelle analisi cliniche di routine, la valutazione del rischio CAD è eseguita mediante il dosaggio di colesterolo totale (CT), trigliceridi (TG), e colesterolo trasportato dalle classi di LP ad alta densità (HDL) e bassa densità (LDL). Si è tuttavia recentemente osservato che la sola determinazione di questi parametri non è sufficiente a predire in modo accurato il rischio CAD. E' pertanto emersa la necessità di sviluppare nuove metodologie di *profiling* completo delle LP per fini diagnostici, che forniscano informazioni sia sulla morfologia che sulla composizione lipidica. Di fondamentale valenza diagnostica possono inoltre risultare le informazioni sulla componente proteica delle LP (apo-lipoproteine) e sulle eventuali interazioni non covalenti fra LP e proteine a bassa abbondanza (LAP) presenti nel siero. Il lavoro qui presentato ha come obiettivo la messa a punto di un approccio integrato alla caratterizzazione delle LP del siero umano, basato sulla tecnica di frazionamento in campo di flusso-flusso (*Flow Field-Flow Fractionation*, F4) accoppiata (A) on-line a rivelazione *Multiangle Laser Scattering* (MALS) e analisi enzimatica FIA-UV/Vis, e (B) off-line a spettrometria di massa elettrospray (ESI/MS) con cromatografia liquida (LC) su nanochip.

(A) La F4 è una tecnica particolarmente adatta alla separazione di analiti di altissimo peso molecolare quali sono le LP. Le tecniche F4 e MALS accoppiate on-line forniscono parametri dimensionali indipendenti quali il raggio idrodinamico ( $r_H$ ) ed il raggio di girazione ( $r_g$ ), dai quali è possibile ottenere informazioni sulla forma e sulla distribuzione di densità delle LP (1). Per determinare in modo diretto e mediante una singola analisi il contenuto di colesterolo e TG in ciascuna classe di LP separata mediante F4, è stato sviluppato un originale metodo enzimatico/spettrofotometrico FIA on-line post-frazionamento, basato sul miscelamento dell'eluato con il cocktail enzimatico impiegato nelle analisi cliniche di routine per la determinazione selettiva del CT e dei TG (2).

(B) Le frazioni raccolte all'uscita del sistema F4-MALS in corrispondenza dei tempi di eluizione delle varie classi di LP sono state digerite con tripsina, e la miscela di peptidi è stata analizzata mediante nanochip LC-ESI/MS. E' stata quindi compiuta l'identificazione delle proteine e dei network di interazione fra proteine per ciascuna frazione, dimostrando di poter così individuare non solo le apo-lipoproteine costitutive delle LP, ma anche la formazione di complessi LP/LAP.

1. D.C. Rambaldi, A. Zattoni, S. Casolari, P. Reschiglian, C. Johann, *Clin. Chem.* **2007**, *53*, 2026.
2. W.T. Friedewald, R.I. Levy, D.S. Fredrickson, *Clin. Chem.* **1972**, *18*, 499.

## Proteomics in cultural heritage

*L. Birolo*<sup>\*</sup>, *G. Leo*<sup>\*</sup>, *L. Cartechini*<sup>†</sup>, *A. Sgamellotti*<sup>#</sup>, *G. Marino*<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italy.

<sup>†</sup>ISTM, CNR, Perugia, Italy.

<sup>#</sup>Dipartimento di Chimica, Università di Perugia, Perugia, Italy.

Science can interact with art in many ways. One way, and possibly the most important one nowadays is providing tools for safeguarding our cultural heritage to ensure that future generations have the opportunity to appreciate artistic masterpieces. Determination of chemical composition of colour layers is an essential step required by restorers to choose a proper restoration technique as well as for dating of art works. The characterization of the colour layer composition includes determination of its inorganic pigments, organic pigments (e.g., madder lake) and binding media (oils, resins, wax or proteinaceous material).

Over the centuries, different organic binders have been used by artists, ranging from eggs, milk or glue, used alone or mixed together or with oils and other organic materials.

Different methods have been proposed in the literature to characterize the proteinaceous binders, and, so far, the identification has been prevalently performed using high-performance liquid chromatography, gas chromatography (GC)-mass spectrometry (MS), pyrolysis-GC-MS and Fourier transform IR spectroscopy. More recently, mass spectrometry was successfully used for protein painting analysis, generating promising results. As in a classical proteomic procedure, the proteinaceous binders are digested with specific proteases. A fingerprint mixture of peptides is thus generated from a protein that is much more individual than amino acid ratios. This resulting mixture can then be analysed by mass spectrometry.

In this work our attention was focused on binders, and in particular we have optimized procedures for suppressing the interference arising from protein contaminations and for the reliable and efficient identification of proteinaceous material in painting models by nanoLC/nano ESI-MS/MS, allowing the identification of the proteins in artworks without ambiguity. The method tested on model samples was then successfully applied to real samples, coming from masterpieces of the vaults of the Assisi Basilica.

# Superfici bioingegnerizzate per lo sviluppo di nuovi metodi ibridi di *sorting* basati sul frazionamento in campo gravitazionale-flusso

B. Roda,<sup>a</sup> S. Casolari,<sup>a</sup> A. Zattoni,<sup>a</sup> P. Reschiglian,<sup>a</sup> M. Mirasoli<sup>b</sup>, A. Roda<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di chimica "G. Ciamician", Via Selmi 2, 40126 Bologna

<sup>b</sup>Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Via Belmeloro 6, 40126 Bologna

L'interesse verso metodi semplici e biocompatibili per la rapida purificazione e l'isolamento da matrici complesse di bioanaliti come acidi nucleici, proteine o cellule intere sta rapidamente aumentando, soprattutto per applicazioni nel campo delle biotecnologie e della proteomica analitica. Attualmente i metodi impiegati sono basati prevalentemente su metodi immunologici e tecniche d'ibridazione [1].

Tra le tecniche separative, la tecnica di frazionamento in campo-gravitazionale (gravitational field-flow fractionation, GrFFF) si è dimostrata adatta ad applicazioni in campo bioanalitico in particolare per lo sviluppo di formati analitici innovativi [2]. La GrFFF può essere applicata direttamente al campione in esame presente in matrici complesse riducendo notevolmente la fase preanalitica.

Al fine di aumentare la selettività della tecnica GrFFF, reazioni biospecifiche, come l'interazione antigene-anticorpo o ligando-recettore, possono essere utilizzate. In questo lavoro, si propone l'immobilizzazione di un specifico anticorpo sulla parete del canale per GrFFF

Microparticelle di polistirene sulla cui superficie è stato legato l'enzima perossidasi di rafano (HRP) sono state impiegate come modello. L'anticorpo anti-HRP è stato immobilizzato sulla parete di accumulazione del canale e l'attività dell'enzima HRP legata alle particelle eluite è stata misurata in chemiluminescenza impiegando sia un sistema per imaging che un luminometro dotato di cella a flusso [3]. Il metodo è stato successivamente applicato alla selezione di batteri patogeni.

I risultati ottenuti mostrano che il bilanciamento tra la costante di affinità dell'analita verso l'anticorpo immobilizzato ed il trasporto assistito dal campo gravitazionale si riflette sulla modifica della forma e dell'intensità della banda di ritenzione caratteristica dell'analita.

Il metodo ibrido presentato combina i vantaggi di una tecnica separativa semplice e non invasiva per lo studio di analiti nella loro forma nativa con la selettività di una reazione biospecifica, consentendo quindi lo sviluppo di metodi di selezione in formato multianalita. Il basso costo e la semplicità di utilizzo rendono il metodo facilmente integrabile in sistemi di analisi comunemente presenti nei laboratori bioimedici, aumentandone le potenzialità d'indagine.

1. Kerr, P. ; Chart, H. ; Finlay, D. ; Pollock, D.A. ; MacKie, D.P. ; Ball, H.J. *J Appl Microbiol* **2001**, *90*, 543-549

2. Magliulo, M. ; Roda, B. ; Zattoni, A. ; Michelini, E. ; Luciani, M. ; Lelli, R. ; Reschiglian, P. ; Roda, A. *Clin. Chem.* **2006** *52*, 2151-2155

3. Melucci, D.; Guardigli, M.; Roda, B.; Zattoni, A.; Reschiglian, P.; Roda, A. *Talanta* **2003** *60*, 303-312

# Label-Free Quantification of Cardiac Membrane Proteins Using Two-Dimensional Lc-Ms

*K. R. Compson<sup>1</sup>, H. Vissers<sup>1</sup>, S. Geromanos<sup>3</sup>, M. Stapels<sup>3</sup>, C. Dorschel<sup>3</sup>, J. Langridge<sup>1</sup>, P. Donoghue<sup>2</sup>, M. Dunn<sup>4</sup>*

<sup>1</sup> Waters Corporation, MS Technologies Center, Manchester, UK

<sup>2</sup> NUI Maynooth, Maynooth, Ireland

<sup>3</sup> Waters Corporation, Milford, MA, USA

<sup>4</sup> Conway Institute, Dublin, Ireland

Heart diseases resulting in heart failure are the leading causes of morbidity and mortality in the Western world, killing one person every 34 seconds in the US. Heart disease is an encompassing term for either systemic disease (e.g. hypertensive heart disease, ischemic heart disease) or specific heart muscle disease (e.g. dilated cardiomyopathy/ DCM). Sub-proteome analysis of such disease sub-sets affords a reduction in sample complexity, potentially revealing biomarkers of cardiac failure that would otherwise remain undiscovered in proteome wide studies. In this study label-free LC-MS has been applied to validate a Triton X-114 based phase enrichment method for cardiac membrane proteins. Annotation of the sub-cellular location combined with GRAVY score analysis indicates a clear separation between soluble and membrane bound proteins. This approach will be discussed and applicable to a wider scale study of disease-associated changes in the cardiac membrane sub-proteome.

During the past decade mass spectrometry has become accepted as an essential tool to better understand protein function, facilitating both the identification and quantification of proteins in complex samples. We, and others, have previously described a novel approach to mass spectrometry based protein identification [1-3] that facilitates the simultaneous acquisition of qualitative and quantitative information, in a data independent fashion.

We have previously used this approach to generate absolute quantification values for proteins contained in biological systems [4]. We have extended this to study samples from a range of organisms, specific tissues, cell lysates and biofluids. Absolute quantification also provides a mechanism to define the protein stoichiometry present within a sample. In this manner protein pathways and families can be discerned and compared, and the mechanism by which proteins interact can be probed. In this presentation we will focus on the implementation and subsequent use of a novel RP-RP 2DLC system in combination with label-free absolute quantification of proteins.

- 1 Bateman et al JASMS 2002 Jul;13(7):792-803.
- 2 Purvine et al. Proteomics. 2003 Jun;3(6):847-50.
- 3 Silva et al, Anal Chem. 2005 Apr 1;77(7):2187-200.
- 4 Silva et al, Mol Cell Proteomics. 2006 Jan;5(1):144-56.
- 5 Hughes et al, J Proteome Res. 2006 Jan;5(1):54-63.

# Studio di colonne cromatografiche in fase inversa basato sulle Relazioni Quantitative Struttura/Eluente-Ritenzione

*F. Ruggieri, A. A. D'Archivio, M. A. Maggi, P. Mazzeo*

Dipartimento di Chimica Ingegneria Chimica e Materiali, Università degli studi di L'Aquila, via Vetoio, 67010, L'Aquila, fabrizio.ruggieri@univaq.it

Modelli predittivi fondati sulla teoria della ripartizione cromatografica o derivati per mezzo di approcci statistici (chemiometrici) possono essere di supporto o, in prospettiva, sostituire i metodi empirici non sistematici tradizionalmente utilizzati per ottimizzare la separazione di miscele complesse. Le relazioni quantitative struttura-ritenzione (QSRR), per esempio, consentono di prevedere la ritenzione dei soluti esclusivamente sulla base della loro struttura molecolare [1]. Nella sua versione originale, il metodo QSRR si applica ad un prefissato sistema cromatografico. In tali condizioni, la diversità strutturale dei soluti è l'unica variabile indipendente del modello, che una volta generato utilizzando un insieme rappresentativo di molecole può essere applicato per prevedere la ritenzione di nuovi soluti nello stesso sistema cromatografico. Dal punto di vista pratico, tuttavia, è auspicabile poter descrivere l'effetto sulla ritenzione dei soluti di tutti i parametri ottimizzabili, incluse le caratteristiche delle fasi cromatografiche. In HPLC in fase inversa, per esempio, la composizione della fase mobile è la variabile comunemente modificata al fine di migliorare la risoluzione di miscele di soluti neutri. In studi precedenti [2-4] abbiamo dimostrato che combinando appropriati descrittori molecolari (di origine computazionale o comuni proprietà chimico-fisiche dei soluti) con la composizione della fase mobile (in miscele binarie acqua-cosolvente esprimibile per mezzo della % di modificante organico) è possibile ottenere modelli predittivi in grado di riprodurre con buona accuratezza il comportamento cromatografico di pesticidi neutri nell'intero intervallo di composizione di interesse analitico. Nei suddetti studi è emersa la necessità di ricorrere a metodi di regressione non-lineari per descrivere adeguatamente l'effetto combinato della struttura e della composizione dell'eluente sulla ritenzione dei soluti. Infatti, i modelli ottenuti per mezzo di reti neurali artificiali sono risultati significativamente più accurati di quelli basati su metodi di regressione multilineari. Seguendo l'approccio precedentemente delineato, nel seguente lavoro è stata studiata la relazione struttura/eluente-ritenzione di un'insieme di pesticidi rappresentativi delle principali classi chimiche in cinque diverse colonne cromatografiche in fase inversa, tutte costituite da silice o composito silice-polimero organico funzionalizzato con gruppi ottadecile (C18), ma con differenti caratteristiche fisiche (porosità, grado di ricopertura del supporto, ecc.). Gli scopi dello studio sono i seguenti: valutare se un modello predittivo sviluppato per una certa colonna è applicabile anche ad altre colonne con simili caratteristiche; valutare, sulla base del peso relativo dei descrittori in ciascun modello, il grado di similarità/dissimilarità tra le colonne; esplorare la possibilità di mettere a punto un unico modello in grado di descrivere oltre all'effetto della struttura dei soluti e della composizione di fase mobile anche l'effetto del tipo di colonna sulla ritenzione cromatografica.

- 1 R. Kaliszan *Chem. Rev.* **2007**, 107, 3212-3246.
- 2 F. Ruggieri, A. A. D'Archivio, G. Carlucci, P. Mazzeo *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1076, 163-169.
- 3 A. A. D'Archivio, F. Ruggieri, P. Mazzeo, E. Tettamanti *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 593, 140-151.
- 4 M. Aschi, A. A. D'Archivio, M. A. Maggi, P. Mazzeo, F. Ruggieri *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 582, 235-242.

# Ottimizzazione mediante metodi di pianificazione sperimentale di un metodo HPLC-UV per l'identificazione e determinazione di ammine biogene e amminoacidi precursori

*E. Mazzucco, F. Gosetti, M. Bobba, E. Marengo, M.C. Gennaro*

Università del Piemonte Orientale, DISAV Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita,  
via Bellini 25/G – 15100 Alessandria, Italy

Gli alimenti ad elevato contenuto proteico sono ricchi di amminoacidi che, in seguito a reazione di decarbossilazione enzimatica, portano alla formazione di ammine biogene. La composizione in ammine biogene riveste particolare interesse sia per la proprietà psico e vaso attive, sia perché indice del grado di conservazione e di stagionatura.

Nei nostri laboratori sono stati sviluppati metodi HPLC-MS/MS per la separazione e determinazione di sette ammine biogene in formaggi [1, 2].

Poiché anche il rapporto amminoacido/ammina sembra giocare un ruolo importante, in questo lavoro viene ottimizzato un metodo cromatografico per la separazione simultanea di cadaverina, istamina, tiramina e triptamina e loro amminoacidi precursori (lisina, istidina, tirosina e triptofano). Per superare il rilevante effetto matrice che si è evidenziato nell'applicazione dei metodi precedenti all'analisi di formaggi, la rivelazione viene effettuata per via spettrofotometrica, dopo derivatizzazione degli analiti mediante cloruro di dansile.

Le condizioni vengono ottimizzate mediante un piano sperimentale *central composite* studiando l'effetto della percentuale di solvente organico, della concentrazione del formiato d'ammonio e del valore di pH. I modelli ottenuti hanno permesso, tramite applicazione di metodi di ottimizzazione con ricerca su griglia e funzione obiettivo multicriterio, di ottenere condizioni operative che garantissero una buona separazione degli analiti. Se necessario questo tipo di approccio consente di porre dei vincoli al tempo massimo di analisi, rilevante per metodi che potrebbero essere utilizzati in analisi di routine. Per gli amminoacidi è stato necessario utilizzare le reti neurali vista la dipendenza non lineare dal pH.

Il metodo analitico è stato validato e applicato alla identificazione e determinazione degli analiti in campioni alimentari.

*Si ringrazia il Comitato Interministeriale per la Programmazione Economica della Regione Piemonte, il Ministero Italiano Università e Ricerca e la Fondazione Cassa di Risparmio di Alessandria.*

1. V. Gianotti, U. Chiuminatto, E. Mazzucco, F. Gosetti, M. Bottaro, P. Frascarolo, M.C. Gennaro *J. Chromatogr. A*, **2008**, *1185*, 296-300.
2. F. Gosetti, E. Mazzucco, V. Gianotti, S. Polati, M.C. Gennaro *J. Chromatogr. A*, **2007**, *1149*, 151-157.

## Sviluppo di nano-colonne LC e loro impiego nella LC/MS

*I. Leonardis, \* P. Palma, \* A. Siviero, † M. Bergna, † A. Cappiello\**

\*Università di Urbino “Carlo Bo” – Istituto di Scienze Chimiche “F. Bruner”

Piazza Rinascimento, 6 – 61029 Urbino

†DANI Instruments S.p.A.

Viale Brianza 87 - 20093 Cologno Monzese (MI)

Lo sviluppo di nano-colonne per LC sta suscitando un crescente interesse grazie al fatto che queste, operando a bassi flussi di fase mobile, semplificano l'accoppiamento con la spettrometria di massa che permette di ottenere informazioni strutturali e l'inequivocabile identificazione di composti.

Questo tipo di colonne offre ulteriori vantaggi, quali minor consumo di solvente e di campione, migliore efficienza della separazione, incremento nel rapporto segnale/rumore con conseguente aumento della sensibilità. Oggigiorno lo sviluppo di nano-colonne LC è ancora in evoluzione, lasciando ampio spazio al miglioramento delle prestazioni ed al tipo di fasi stazionarie che possono essere utilizzate.

In questa presentazione viene proposto un nuovo ed efficiente metodo per la produzione di nano-colonne riproducibili e facili da usare, basato sulla tecnologia slurry packing. Sono state realizzate nano-colonne di diverse dimensioni (100, 75 e 50  $\mu\text{m}$ ), impaccate con differenti fasi stazionarie (ciano, fenile, C8, C18 e silice), così da poter rispondere alle più varie esigenze analitiche, ottenendo sempre ottima efficienza e simmetria dei picchi. Le colonne ottenute sono state valutate misurando alcuni parametri fondamentali quali la simmetria, l'efficienza e la riproducibilità inter-colonna con l'impiego di miscele test, con le quali è stata verificata anche la qualità della separazione cromatografica. Inoltre, è stata dimostrata la compatibilità delle nano-colonne con lo spettrometro di massa, effettuando prove con composti test e utilizzando diverse interfacce LC-MS.

## Determinazione di sostanze ad attività antiestrogenica in urina umana: sviluppo e validazione di un metodo analitico in fast-GC/MS

*E. Gerace*<sup>\*†</sup>, *A. Salomone*<sup>\*</sup>, *S. Racca*<sup>§</sup>, *G. Abbadessa*<sup>§</sup>, *M. Vincenti*<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>Centro Regionale Antidoping “A. Bertinaria”, Regione Gonzole 10/1, 10043 Orbassano (TO)

<sup>§</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università degli Studi di Torino, Regione Gonzole 10/1, 10043 Orbassano, Torino

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica Analitica, Università degli Studi di Torino, via P.Giuria 5, 10125 Torino  
e-mail: [enrico.gerace@unito.it](mailto:enrico.gerace@unito.it)

L'abuso di steroidi anabolizzanti androgeni (SAA) è largamente diffuso sia tra gli atleti professionisti che nello sport amatoriale al fine di aumentare l'aggressività, la massa muscolare e la resistenza allo sforzo fisico. Per contrastare alcuni pesanti effetti collaterali (ginecomastia, ipertrofia prostatica, ipogonadismo) dovuti a squilibri ormonali che l'abuso di SAA induce, negli ambienti sportivi professionistici ma anche nelle palestre amatoriali è sempre più diffusa l'assunzione indiscriminata di sostanze ad attività antiestrogenica. Pur essendo vietati dalla WADA (Agenzia Mondiale Anti-Doping) sia “*in competition*” che “*out of competition*”, per gli antiestrogeni non si ottengono riscontri di positività coerenti con la frequenza di assunzione attesa; appare dunque fondamentale, ai fini dei controlli antidoping e della tutela della salute di tutti gli sportivi, lo sviluppo e la validazione di una tecnica analitica esclusiva per l'analisi simultanea di sostanze ad attività antiestrogenica e dei loro metaboliti in matrice urinaria.

Dopo idrolisi enzimatica con  $\beta$ -glucuronidasi, gli antiestrogeni o loro metaboliti (identificati attraverso studi metabolici “*in vitro*” con microsomi epatici di ratto) vengono estratti dalla matrice urinaria mediante estrazione a pH>9 con *tert*-butilmetiletere e rivelati come trimetilsililderivati mediante un rivelatore di massa Agilent 5975-inert MSD accoppiato ad un gascromatografo Agilent 6890N dotato di una colonna capillare Supelco “Equity 1” con fase stazionaria 100% dimetilpolisilossanica (lunghezza 5 m, diametro interno 0.1 mm, spessore fase stazionaria 0.1  $\mu$ m). La validazione del metodo è stata condotta in conformità alle linee guida WADA e ISO 17025.

La separazione cromatografica degli analiti è ottenuta in poco più di 4 minuti, con una riduzione di un fattore di circa 5 rispetto al tempo necessario con i metodi cromatografici tradizionali. L'assenza di significative interferenze di matrice, la ripetibilità dei tempi di ritenzione e delle abbondanze relative degli ioni caratteristici di ogni molecola, garantiscono la corretta identificazione degli analiti. Il metodo risulta essere lineare in intervalli di concentrazione da 0 a 1000 ng/mL. I criteri di precisione (CV%<15 a 500 ng/mL) sono soddisfatti per ogni analita. I limiti di rilevabilità sono compresi tra i 10 ng/mL del formestano e i 200 ng/mL del testolattone. Infine, il metodo proposto è stato applicato efficacemente su campioni urinari di pazienti affette da carcinoma mammario estrogeno-dipendente in trattamento con farmaci ad azione antiestrogenica. L'introduzione di metodi di cromatografia veloce garantisce una notevole riduzione dei tempi di lavoro, permettendo l'aumento del carico analitico del laboratorio. Il metodo validato può diventare uno strumento utile per l'analisi di screening di 14 sostanze ad attività antiestrogenica o loro metaboliti, trovando importanti applicazioni in diversi settori, dai controlli antidoping alle determinazioni cliniche.

## Sviluppo di nuovi coating con recettori supramolecolari per microestrazione in fase solida

*F. Bianchi*,\* *M. Mattarozzi*,\* *P. Betti*,<sup>†</sup> *F. Bisceglie*,\* *M. Careri*,\* *A. Mangia*,\* *L. Sidisky*,<sup>◊</sup>  
*S. Ongarato*, *E. Dalcanale*<sup>‡</sup>

\*Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università degli Studi di Parma, Viale Usberti 17/A, 43100 Parma, Italy

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica Organica e Chimica Industriale, Università degli Studi di Parma, Viale Usberti 17/A, 43100 Parma, Italy

<sup>◊</sup>Supelco 595 North Harrison Road, Bellefonte, PA 16823 USA

<sup>‡</sup>Sigma Aldrich Italia S.R.L, via Gallarate 154, 20151 Milan, Italy

Lo sviluppo di materiali innovativi per l'estrazione e la pre-concentrazione di composti organici a livelli di tracce in matrici solide, liquide e gassose rappresenta un argomento di estremo interesse. In tale l'ambito, l'attività di ricerca è prevalentemente rivolta alla realizzazione di materiali caratterizzati da un'elevata selettività verso analiti target o specifiche classi di composti. Rispetto alle tecniche di estrazione tradizionali, la microestrazione in fase solida (SPME) ha trovato sempre maggiori applicazioni per l'analisi di composti volatili e semi-volatili in matrici di interesse alimentare, ambientale e biologico.<sup>1,2</sup> Nonostante i vantaggi di tale tecnica, sono noti problemi legati alla deposizione fisica di alcuni coating, che causano una riduzione della stabilità termica e chimica dei prodotti commerciali. La mancanza di un legame chimico tra il coating ed il supporto della fibra richiede pertanto lo sviluppo di procedure di preparazione innovative in grado di ovviare ai problemi citati.

In questo studio sono stati preparati, mediante processo sol-gel, coating innovativi ed altamente selettivi per SPME basati sull'utilizzo di opportuni recettori supramolecolari (cavitandi a ponte chinossalinico) in grado di interagire selettivamente con composti aromatici. Le fibre ottenute sono state caratterizzate in termini di spessore del coating, morfologia, stabilità termica e resistenza al pH. I risultati hanno evidenziato uno spessore medio del coating pari a  $56 \pm 6 \mu\text{m}$ , una eccellente stabilità termica (fino a 400°C) ed un'ottima ripetibilità con RSD < 6% sia per quanto riguarda la valutazione della ripetibilità intra-batch che inter-batch. Le potenzialità applicative del nuovo coating sono state quindi verificate per il campionamento selettivo di idrocarburi aromatici a livello di ultratracce in campioni di acque superficiali. Un'efficienza di estrazione almeno due volte superiore a quella ottenuta utilizzando le fibre disponibili commercialmente è stata inoltre verificata per il campionamento di clorobenzeni nei medesimi campioni, ottenendo recuperi nel range  $87.4 \pm 2.6\%$  a  $94.7 \pm 1.9\%$ .

La selettività impartita al coating dalla presenza dei cavitandi a ponte chinossalinico è stata infine sfruttata per il monitoraggio del benzene in aria ottenendone il desorbimento selettivo in presenza di altri idrocarburi alifatici ed aromatici a più elevate concentrazioni.

1. J. Pawliszyn *Solid Phase Microextraction*, Wiley-VCH Ed.; New York; **1997**.

2. F. Bianchi, M. Careri, A. Mangia, M. Musci *J. Chromatogr. A* **2006**, *1102*, 268-272.

## **Meccanismi di controllo del flusso elettroosmotico e della mobilità elettroforetica in elettroforesi capillare**

*D. Corradini, C. Bello, A. De Rossi, F. Siepe, I. Nicoletti*

Istituto di Metodologie Chimiche del CNR, Area della Ricerca di Roma 1, Via Salaria Km 29,300, C.P. 10, 00016 Monterotondo Stazione (Roma). E-mail: danilo.corradini@imc.cnr.it

Questa comunicazione riporta i risultati di uno studio condotto per valutare l'influenza della composizione chimica di una serie di soluzioni elettrolitiche sul flusso elettroosmotico e la mobilità elettroforetica di peptidi, proteine ed altre biomolecole in elettroforesi capillare. L'indagine è stata condotta utilizzando soluzioni elettrolitiche (BGE) di composizione studiata per possedere requisiti di bassa conducibilità, adeguato potere tampone e trasparenza alle radiazioni UV a basse lunghezza d'onda. La bassa conducibilità della soluzione elettrolitica è un requisito richiesto per limitare la formazione di calore nel capillare per effetto Joule e le conseguenti variazioni di temperatura che si ripercuotono sulla mobilità elettroforetica degli analiti. La necessità di controllare l'equilibrio protonico di analiti con proprietà acido-base, come peptidi e proteine, richiede l'impiego di soluzioni elettrolitiche con adeguato potere tampone, al fine di mantenere inalterata la loro carica netta e, conseguentemente, la mobilità elettroforetica.

Soluzioni elettrolitiche con i suddetti requisiti sono state utilizzate nel presente studio. Alcune delle BGE utilizzate sono costituite da una di- o triammina alifatica in miscela con un acido monoprotico o poliprotico e consentono l'efficace controllo dell'equilibrio protonico in ampi intervalli di pH, determinati dai valori dei  $pK_a$  della poliammina e dell'acido poliprotico. Queste BGE sono particolarmente efficaci nel limitare le interazioni di peptidi e proteine basiche con la superficie dei capillari di silice fusa che costituiscono una delle principali fonti di scarsa efficienza, generalmente osservata nella separazione di questi analiti in capillari di silice fusa non sottoposti a modificazione chimica della parete interna. La comunicazione discute aspetti pratici e teorici relativi all'influenza delle soluzioni elettrolitiche esaminate sulla generazione del flusso elettroosmotico e sulla mobilità elettroforetica di molecole di diversa dimensione e struttura chimica. Sono inoltre valutati gli effetti sul flusso elettroosmotico e la mobilità elettroforetica di vari analiti causati da ioni di metalli di transizione incorporati nella soluzione elettrolitica a diverse concentrazioni. Sono state così accertate interazioni degli ioni rame (II) e nichel (II) con alcune proteine e composti fenolici, la cui mobilità elettroforetica ha subito variazioni proporzionali alla concentrazione di ione metallico incorporato nella BGE. L'entità dell'interazione della proteina con lo ione del metallo di transizione varia con il tipo di proteina, pertanto, l'aggiunta di un determinato sale di un metallo di transizione nella soluzione elettrolitica determina indicative variazioni della selettività del sistema separativo. Altro aspetto esaminato e discusso riguarda la variazione di flusso elettroosmotico e della mobilità elettroforetica in dipendenza dell'incorporazione di un solvente organico nella soluzione elettrolitica, il cui effetto è in qualche caso selettivo e, conseguentemente, non limitato a determinare unicamente variazioni di viscosità e costante dielettrica della soluzione elettrolitica. Gli aspetti generali esaminati sulla dipendenza del flusso elettroosmotico e della mobilità elettroforetica dalla composizione della soluzione elettrolitica sono discussi al fine di illustrare il loro ruolo nell'ottimizzazione di metodi di separazione, mediante elettroforesi capillare, di molecole d'interesse biologico in diverse matrici complesse.

# Disegno di miscele nell'ottimizzazione di un metodo di MEEKC per il controllo di qualità dell'antimuscarinico oxibutinina

*S. Furlanetto, I. Giannini, S. Orlandini, S. Pinzauti*

Università di Firenze, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Via Ugo Schiff 6,  
50019 Sesto Fiorentino

L'identificazione e la determinazione di impurezze sono aspetti fondamentali dell'analisi farmaceutica, essenziali per il controllo di qualità nel rispetto dei parametri di purezza di un principio attivo stabiliti dai principali organi regolatori (1). Il dosaggio delle impurezze è essenziale in quanto queste, oltre a compromettere la purezza del principio attivo, possono presentare una diversa attività farmacologica o addirittura proprietà tossiche. Le metodologie analitiche sviluppate per il controllo di qualità di principi attivi e forme farmaceutiche, devono avere quindi una sensibilità tale da permetterne il dosaggio a livelli 0.1-1% rispetto al principio attivo (2) come richiesto dalle linee guida ICH per la convalida di metodi analitici in ambito farmaceutico (3).

L'oxibutinina (OXY) è un farmaco ad azione antimuscarinica impiegato nel trattamento dell'incontinenza urinaria. In questo studio è stato sviluppato un metodo per il controllo di qualità dell'OXY come *drug substance* e *drug product*. Gli analiti in esame sono stati OXY e le sue possibili impurezze di sintesi I<sub>A</sub>, I<sub>B</sub>, I<sub>C</sub>, I<sub>D</sub>, I<sub>X</sub>. Il metodo analitico impiegato è stato la cromatografia elettrocinetica a base di microemulsioni (*Microemulsion ElectroKinetic Chromatography*, MEEKC). In questa tecnica una fase pseudo stazionaria permette di separare analiti con diversa natura acido/base. Data la complessità della separazione è stata comunque necessaria anche l'aggiunta di una seconda fase pseudostazionaria costituita da idrossi-propil- $\beta$ -ciclodestrina (HP $\beta$ CD). La formazione di una seconda fase pseudostazionaria chirale da parte di CD è stata dimostrata dalla sua interazione con l'I<sub>D</sub>. Si osserva infatti la separazione dei due enantiomeri di I<sub>D</sub> in una zona lontana da quella tipica delle interazioni con le gocce di olio della microemulsione. Il sistema è stato ottimizzato mediante una strategia multivariata. È stato pianificato un disegno di miscele (mixture design) per individuare la migliore composizione della microemulsione considerando come risposte le risoluzioni critiche e il tempo di analisi e successivamente un disegno di Doehlert per l'ottimizzazione dei fattori di processo concentrazione di HP $\beta$ CD e voltaggio applicato. La funzione di desiderabilità ha permesso di trovare le migliori condizioni di analisi. La microemulsione ottimizzata è risultata essere così composta: 89.1% di borato 10mM pH 9.1; 1,7% di *n*-eptano; 9,2% di SDS/1-butanolo. I valori ottimizzati di voltaggio e concentrazione di HP $\beta$ CD, sono stati di 29kV e 18mM. L'acido flufenamico è stato impiegato come standard interno.

Il metodo è stato quindi convalidato secondo le linee guida ICH (32) ed applicato ad un campione reale di compresse contenenti 5 mg di oxibutinina.

1. S. Ahuja, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2007**, 59, 3-11.
2. S. Furlanetto, S. Orlandini, A.M. Marras, P. Mura, S. Pinzauti, *Electrophoresis* **2006**, 27, 805-818.
3. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Q2(R1), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology **2005**.

## **Flow Field Flow Fractionation ed ICP-AES per l'analisi di nano-particelle di TiO<sub>2</sub>.**

*C. Contado, A. Pagnoni*

Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, Via Luigi Borsari 46, I-44100 Ferrara, I.  
e-mail: [Catia.Contado@unife.it](mailto:Catia.Contado@unife.it)

L'applicazione delle nanotecnologie in campo cosmetico e farmaceutico è prassi consolidata oramai da decenni. Molti sono i farmaci ed i prodotti per la cura personale in cui è possibile trovare delle nanodispersioni, ma attualmente davvero pochi sono i metodi analitici che consentono l'analisi dimensionale dei componenti nanoparticellati, quando invece è noto, che i possibili effetti negativi sull'uomo non sono collegati solo alle dosi (concentrazione) ma anche alle dimensioni delle particelle utilizzate.

In questo studio, la tecnica di frazionamento in campo flusso - flusso (FIFFF) è stata accoppiata con un rivelatore specifico, lo Spettrometro ad Emissione Atomica con sorgente al plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-AES) per determinare e caratterizzare dimensionalmente nano particelle di TiO<sub>2</sub> in un campione ampiamente utilizzato in fotocatalisi (Aeroxide P-25 Degussa) ed in una nota lozione solare.

Le nano particelle di TiO<sub>2</sub> del campione P-25 sono state sospese in un opportuno mezzo disperdente e frazionate con FIFFF. Il profilo di eluizione ottenuto mediante rivelazione UV è stato sovrapposto al profilo di concentrazione del Ti determinato dall'ICP-AES sulle frazioni di eluato raccolte durante il frazionamento. Il frazionamento FIFFF ha messo in luce interessanti aspetti legati alla stabilità delle sospensioni preparate, evidenziati dalle distribuzioni dimensionali (PSD) ottenute dai frattogrammi.

Le nano-particelle di TiO<sub>2</sub> del preparato cosmetico sono state isolate mediante estrazione con solvente e frazionate con la FIFFF. La separazione in questa applicazione è avvenuta quantitativamente ed i frattogrammi, opportunamente trasformati in distribuzioni dimensionali (PSD) hanno dimostrato che le singole particelle di TiO<sub>2</sub> hanno dimensioni dell'ordine dei 10-30 nm mentre gli agglomerati possono arrivare a ca. 250-300 nm, come verificato dalla microscopia elettronica a scansione (SEM).

# Cromatografia Tridimensionale Comprehensive Off-line LC-GCxGC Accoppiata ad uno Spettrometro di Massa per l'Analisi del Gasolio

*D. Sciarrone\**, *P.Q. Tranchida\**, *P. Dugo†*, *G. Dugo\**, *L. Mondello\**

\*Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italia

†Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell'Ambiente, Università di Messina, Salita Sperone, 98166 Messina, Italia.

Il gasolio, come tutti i derivati del petrolio, è una matrice ad alta complessità, caratterizzata dalla presenza di numerose famiglie di idrocarburi, la cui completa separazione eccede ampiamente la capacità di una analisi GC convenzionale. La gas cromatografia bidimensionale comprehensive è di recente diventata la tecnica di elezione per l'alto potere risolutivo e per la grande quantità di informazioni ricavabili grazie alla distribuzione di tali composti lungo il piano bidimensionale<sup>1-3</sup>. Anche se in tale contesto le famiglie appaiono separate in base alla loro polarità crescente lungo la seconda dimensione, sono comuni alcune sovrapposizioni. Una preseparazione LC, basata sull'uso di una colonna amino operante in fase normale, permette la separazione delle singole famiglie idrocarburiche, in base alla loro polarità, consentendone la raccolta e la loro successiva iniezione in un sistema GCxGC con doppio forno, equipaggiato con un iniettore PTV per l'introduzione di grossi volumi di campione, ed accoppiato ad uno spettrometro di massa con quadrupolo ad alta velocità di acquisizione. Tale metodica mostra come le precedenti coeluzioni, presenti nella GCxGC "convenzionale", vengano risolte. L'uso del doppio forno permette programmate di temperatura indipendenti tra le due dimensioni, generando la possibilità di operare in condizioni ideali in funzione delle singole famiglie analizzate. La possibilità di introdurre volumi maggiori di campione, nel caso di prodotti presenti comunemente in tracce come gli idrocarburi poliaromatici, importanti soprattutto per la loro pericolosità nei confronti della salute umana e per il loro potenziale inquinante per l'ambiente, ne facilita l'identificazione. Inoltre, l'utilizzo di un software appositamente sviluppato permette una accurata quantizzazione di tali composti.

*Ringraziamenti: Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

1. Mondello, L., Tranchida, P.Q., Dugo, P., Dugo, G., Mass Spectrom. Rev., 2008, 27, 101-124.
2. Dugo, P., Cacciola, F., Kumm, T., Dugo, G., Mondello, L., J. Chromatogr. A, 2008, 1184, 353-368.
3. de Konig, S., Janssen H.-G., van Deursen, M., Brinkman, U.A.Th., J. Sep. Sci., 2004, 27, 397-409.

## Modelli di speciazione per la chimica acido-base di vini bianchi

*E. Prenesti, P. G. Daniele, S. Berto*

Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università, Via Pietro Giuria 5, I-10125, Torino (Italy)

In questo lavoro di ricerca si sono eseguite determinazioni analitiche e misure d'equilibrio su vini bianchi. In particolare, si sono studiati gli aspetti acido-base della chimica di vini bianchi da vitigni piemontesi (Erbaluce 2000 e 2001 e Cortese 2000 e 2001) e internazionali (Chardonnay 2002 californiano e Riesling 2000 francese). L'obiettivo è quello di mettere in relazione i dati derivanti dalle titolazioni alcalimetriche del vino (pH e acidità totale) con gli equilibri acido-base coinvolti, al fine di costruire un modello chimico che renda conto del comportamento acido-base. A tale proposito sono stati determinati: (i) i valori delle costanti di protonazione delle principali sostanze coinvolte negli equilibri acido-base (pH < 7) della matrice in questione mediante titolazioni alcalimetriche o acidimetriche su soluzioni sintetiche, in appropriate condizioni sperimentali (solvente misto acqua/alcol: 12% (v/v) di etanolo (EtOH), perché la maggior parte dei vini da tavola ha un grado alcolico (1) che cade nell'intervallo 12±1%, - mezzo ionico: KCl, - forza ionica: 0.05 e 0.1 M, valori scelti sulla base della composizione media della matrice, risultante dallo stato di protonazione in cui si trovano gli analiti al pH del fluido, - temperatura: 25 °C); (ii) le concentrazioni delle specie chimiche coinvolte negli equilibri acido-base e responsabili della proprietà ritenute significative al fine dello studio (come la forza ionica), quali: acidi carbossilici e amminoacidi (mediante HPLC-RP e HPLC- IEC), anioni inorganici (mediante HPLC-IEC) e ioni metallici (mediante F-AAS e ICP-AES). Per i vini sinora esaminati (compresi vini rossi piemontesi e da vitigni internazionali (2, 3), sono stati ottimizzati alcuni modelli chimici che, a partire dalle concentrazioni degli analiti responsabili delle caratteristiche acido-base del vino, dai valori delle costanti di protonazione in ambiente acquoso o idroalcolico e tenendo contemporaneamente conto di tutti gli equilibri chimici coinvolti, permettono di calcolare il pH del vino (con l'ausilio di un programma di calcolo specifico per gli equilibri in soluzione). In particolare, nella costruzione dei modelli, sono stati considerati simultaneamente: 14 sostanze responsabili dell'acidità del vino, 22 equilibri di protonazione relativi alle suddette sostanze e 16 ioni metallici (i più importanti sono: calcio, magnesio, sodio e potassio) responsabili della forza ionica del fluido (unitamente ad anioni inorganici come il solfato e l'idrogenofosfato). La forza ionica è stata così calcolata ed è risultata prossima a 0.05 M per entrambi i vini studiati. Dall'analisi dei differenti modelli si comprende che la scelta di corretti valori termodinamici (4) è di primaria importanza al fine di ottenere il miglior accordo tra il pH calcolato dalla simulazione basata sul modello chimico e il pH misurato sperimentalmente (con adatta procedura di taratura dell'elettrodo di vetro comprendente attenzione per la forza ionica e per il solvente).

C. S. Ough, M. A. Amerine, "Methods for Analysis of Musts and Wines", John Wiley & Sons, **1988**

E. Prenesti, P. G. Daniele, S. Toso, V. Zelano, M. Ginepro, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, 507(2), 263-273

E. Prenesti, P. G. Daniele, S. Toso, V. Zelano, S. Berto, *Chem. Spec. and Bioavail.*, **2004**, 16, 17-24

P. G. Daniele, G. Ostacoli, *Ann. Chim. (Rome)*, **1976**, 66, 511-520

# Caratterizzazione dell'adsorbimento del Fe(III) su una membrana chelante.

## Equilibri cinetici e termodinamici.

G. Alberti, M. G. Guiso, I. Torrisi, M. Pesavento, R. Biesuz

Università di Pavia, Dipartimento di Chimica Generale, via Taramelli 12 27100 Pavia

Viene affrontato lo studio della distribuzione del Fe(III) su una resina chelante immobilizzata su teflon che si presenta sotto forma di membrana, disponibile in commercio da qualche tempo (Empore, 3M).<sup>1</sup> Le reazioni di scambio fra il Fe(III) e la membrana sono state studiate dal punto di vista cinetico e termodinamico per stabilire i complessi attraverso cui lo ione si adsorbe e si lega ai gruppi imminodiacetici presenti sulla membrana stessa.

Il ruolo cruciale del ferro nei sistemi biologici è ben noto. Fra gli oligo-elementi è quello presente a più elevata concentrazione; è coinvolto, non solo nel trasporto dell'ossigeno, ma in molti altri fondamentali processi biochimici. In ambito ambientale è solitamente percepito, fra i metalli pesanti, come non pericoloso, nonostante a volte la sua elevata concentrazione richieda, nelle acque destinate all'uso umano, trattamenti di deferrizzazione. L'attenzione per i suoi livelli di concentrazione, al contrario molto bassi, negli oceani aperti suscita molto interesse in quanto è riconosciuto come uno dei principali agenti limitanti la produzione primaria, fatto questo che riveste un ruolo estremamente delicato nella rimozione dei gas serra dall'atmosfera.

Come per gli altri ioni metallici, la sua reattività, in questo specifico caso molto spiccata perché coinvolge anche processi redox tanto nei sistemi biologici che in quelli ambientali, è legata alla sua speciazione che è in grado di modulare la sua biodisponibilità.

Da diverso tempo a Pavia proponiamo di studiare le distribuzioni dei metalli con un metodo competitivo in grado di fornire informazioni sul grado di complessazione di uno specifico metallo dalla frazione che si adsorbe su una resina chelante.<sup>2-3</sup> È fondamentale, per far questo, conoscere i meccanismi attraverso cui un metallo si adsorbe, in quanto solo indicativamente sono gli stessi che si hanno in soluzione acquosa per un legante con struttura simile a quella presente sul gruppo attivo dell'adsorbente. Una volta chiarito il meccanismo di adsorbimento, è possibile quantificare il coefficiente di ripartizione in qualunque condizione sperimentale ci si trovi al momento dell'utilizzo (pH, I, concentrazione di metalli alcalino terrosi), come in passato si è fatto con le resine, anche con la membrana. Dal punto di vista pratico l'utilizzo di membrana al posto della resina in granelli offre un miglior controllo delle fonti di contaminazione e notevoli vantaggi pratici. Ad esempio, si elimina la fase di filtrazione e si riduce il volume di soluzione impiegato per l'equilibratura. Questo aspetto può dimostrarsi di fondamentale importanza per applicazioni in campo biologico. Vengono presentati i risultati per la validazione del metodo della titolazione con la membrana in campioni contenenti Fe(III). Tale metodo è stato per lungo tempo e continua ad essere utilizzato per lo studio della distribuzione delle specie di svariati ioni metallici, con resine commerciali sempre sotto forma di grani.

1. [http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en\\_US/Empore/](http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_US/Empore/)
2. R. Biesuz, G. Alberti, G. D'Agostino, E. Magi, M. Pesavento, *Mar. Chem.* 2006, 101(3-4), 180
3. R. Biesuz, G. Alberti, M. Pesavento, *J. Sol. Chem.* 2008, 37, 527

## Complessazione all'Interfaccia Soluzione–FePO<sub>4</sub>(am). Adsorbimento di ioni Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> e Cr<sup>3+</sup>

*M. Iuliano, G. De Tommaso, L. Ciavatta, G. Germano*

Dipartimento di Chimica “Paolo Corradini”, Università degli studi di Napoli Federico II,  
Complesso Universitario Monte Sant'Angelo, Via Cinthia 45, 80126 Napoli

La formazione di complessi all'interfaccia soluzione–FePO<sub>4</sub>(am), HFP, è stata studiata alla temperatura di 25°C e in mezzo ionico (Na)ClO<sub>4</sub> 0.1 mol/dm<sup>3</sup> attraverso misure della concentrazione libera del catione, [M], in sospensioni all'equilibrio e preparate per contenere differenti concentrazioni del metallo, C<sub>M</sub>, di solido, C<sub>S</sub>, e di p[H]. La [Cu<sup>2+</sup>] era determinata con misure potenziometriche impiegando un elettrodo ione–selettivo. La [Cd<sup>2+</sup>] era determinata attraverso polarografia ad impulsi differenziati. Infine la [Cr<sup>3+</sup>] era analizzata per via spettrofotometrica come Cr(VI), dopo ossidazione con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in soluzione alcalina. Il p[H] era misurato con un elettrodo di vetro. Le reazioni di complessazione nei sistemi Cu(II)–HFP e Cd(II)–HFP erano sufficientemente rapide da consentire misure sotto forma di titolazione. Nel sistema Cr(III)–HFP, invece, per la nota inerzia dello ione Cr<sup>3+</sup>, uno stato stazionario veniva raggiunto dopo 20–30 giorni; pertanto si è preparata una serie di soluzioni, di differente composizione, che veniva analizzata in tempi successivi fino a convergenza, entro l'errore sperimentale, dei risultati. La superficie di HFP contiene siti adiacenti >FeOH e >POH che sono presenti in eguale quantità. Un gruppo >FeOH e il suo contiguo, >POH, sono formalmente considerati come facenti parte di un unico sito che contiene complessivamente due gruppi OH e, quindi, vengono simboleggiati come >S(OH)<sub>2</sub>. Le proprietà acido–base del sito >S(OH)<sub>2</sub>, necessarie per l'interpretazione degli equilibri di complessazione, sono descritte dai seguenti equilibri, stabiliti in altra sede: >S(OH)<sub>2</sub> + H<sup>+</sup> ⇌ S(OH)<sub>2</sub>H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>1,0,0(intr)</sub> = 1.3 ± 0.1 e >S(OH)<sub>2</sub> ⇌ SO<sub>2</sub>H<sup>–</sup> + H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>–1,0,0(intr)</sub> = – 4.67 ± 0.05.

La complessazione di rame(II), studiata per i seguenti intervalli: 4.0 ≤ p[H] ≤ 6.0, 1.0 × 10<sup>–4</sup> ≤ [Cu(II)] ≤ 3 × 10<sup>–3</sup> mol/dm<sup>3</sup> e 1.0 × 10<sup>–3</sup> ≤ C<sub>S</sub> ≤ 3 × 10<sup>–3</sup> mol/dm<sup>3</sup>, è consistente con le specie: Cu<sup>2+</sup> + >S(OH)<sub>2</sub> ⇌ >S(OH)<sub>2</sub>CuH<sub>–1</sub><sup>+</sup> + H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>–1,1,1(intr)</sub> = – 2.8 ± 0.2 e Cu<sup>2+</sup> + >S(OH)<sub>2</sub> ⇌ >S(OH)<sub>2</sub>CuH<sub>–2</sub> + 2H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>–2,1,1(intr)</sub> = – 6.26 ± 0.10. La specie >S(OH)<sub>2</sub>CuH<sub>–1</sub><sup>+</sup> rappresenta solo una piccola percentuale del metallo adsorbito.

I dati del sistema cadmio(II)–HFP, raccolti per i seguenti intervalli: 4.0 ≤ p[H] ≤ 6.0, 1.5 × 10<sup>–5</sup> ≤ [Cd(II)] ≤ 1.0 × 10<sup>–4</sup> mol/dm<sup>3</sup> e 1.0 × 10<sup>–3</sup> ≤ C<sub>S</sub> ≤ 3.0 × 10<sup>–3</sup> mol/dm<sup>3</sup> vengono interpretati con gli equilibri: Cd<sup>2+</sup> + >S(OH)<sub>2</sub> ⇌ >S(OH)<sub>2</sub>CdH<sub>–1</sub><sup>+</sup> + H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>–1,1,1(intr)</sub> = – 3.1 ± 0.2 e Cd<sup>2+</sup> + >S(OH)<sub>2</sub> ⇌ >S(OH)<sub>2</sub>CdH<sub>–2</sub> + 2H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>–2,1,1(intr)</sub> = – 8.0 ± 0.1. Il complesso >S(OH)<sub>2</sub>CdH<sub>–1</sub><sup>+</sup> può raggiungere concentrazioni anche superiori al 10% del metallo adsorbito.

I dati del sistema cromo(III)–HFP, raccolti negli intervalli: 2.0 ≤ p[H] ≤ 3.3, 5.0 × 10<sup>–5</sup> ≤ [Cr(III)] ≤ 5.0 × 10<sup>–4</sup> mol/dm<sup>3</sup> e 1.0 × 10<sup>–3</sup> ≤ C<sub>S</sub> ≤ 6.0 × 10<sup>–3</sup> mol/dm<sup>3</sup> sono consistenti con la reazione: Cr<sup>3+</sup> + >S(OH)<sub>2</sub> ⇌ >S(OH)<sub>2</sub>CrH<sub>–3</sub> + 3H<sup>+</sup>, log <sup>S</sup>β<sub>–3,1,1(intr)</sub> = – 5.5 ± 0.2. In tutti i sistemi studiati il metallo non viene praticamente adsorbito per valori di acidità superiori a quelli studiati, mentre più del 90% della concentrazione totale del metallo viene adsorbita per valori di acidità inferiore a quella investigata.

## Coefficienti di attività di varie classi di leganti da misure potenziometriche e di solubilità

C. Bretti, R. M. Cigala, F. Crea, C. Foti, S. Sammartano

Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica.  
Università degli Studi di Messina. Salita Sperone 31, 98116 Messina (Vill. S. Agata).  
[fcree@unime.it](mailto:fcree@unime.it)

La conoscenza dei parametri termodinamici di protonazione e di complessazione delle varie classi di leganti presenti nelle acque naturali e nei fluidi biologici, è di fondamentale importanza, poiché tramite tali parametri è possibile conoscere e regolare i vari processi naturali come il trasporto, l'adsorbimento o la dissoluzione dei componenti i sistemi naturali. Le proprietà acido-base dei leganti sono dipendenti da vari fattori, tra i quali ricordiamo: la temperatura, la presenza in quantità variabili di sali di elettroliti forti, la natura degli stessi elettroliti. In tale contesto è importante definire equazioni matematiche che consentono di modellare il comportamento dei leganti nelle più svariate condizioni sperimentali; i modelli matematici più utilizzati sono quello di Debye-Hückel, di Pitzer e della SIT (Teoria delle Interazioni ioniche Specifiche), mediante i quali è possibile calcolare i coefficienti di attività delle specie ioniche presenti in soluzione. Il limite di applicabilità di tali modelli è spesso legato alla conoscenza dei coefficienti di attività delle specie neutre ( $\gamma_N$ ), il cui valore viene solitamente assunto essere unitario o del tutto trascurato. Questa semplificazione è spesso inappropriata poiché  $\log \gamma_N > |0.1|$  e  $\gamma_N$  varia nettamente al variare della forza ionica e del mezzo ionico. Attraverso semplici misure di solubilità in vari mezzi ionici e differenti valori di forza ionica, o attraverso misure di distribuzione in miscele soluzione acquosa/solvente

organico, è possibile determinare il coefficiente di Setschenow dei vari leganti; tale coefficiente è direttamente legato al coefficiente di attività della specie neutra attraverso la seguente equazione. dove  $k$  definisce il coefficiente di Setschenow, ed  $S_0^0$  e  $S^0$ , la solubilità della

$$\log \gamma_N = \log \frac{S_0^0}{S^0} = km_{MX}$$

specie neutra a diluizione infinita ed in soluzione acquosa. In questi ultimi anni, il nostro gruppo di ricerca ha avviato uno studio sistematico sulle proprietà acido-base di differenti classi di leganti organici (carbossilati, ammine, poliamminocarbossilati, aminoacidi, ecc.) in differenti mezzi ionici (NaCl, Me<sub>4</sub>NCl, Et<sub>4</sub>NI, acqua marina sintetica (SSWE)) e forze ioniche, al fine di determinarne non solo le costanti protonazione, ma anche la solubilità, la dipendenza dalla forza ionica ed i coefficienti di attività di tutte le specie (ioniche e neutre) presenti in soluzione. I risultati ottenuti hanno consentito di evidenziare che: a) la solubilità è strettamente legata alle proprietà chimico-fisiche sia del legante che del sale costituente il mezzo ionico. Per leganti O-donatori: Et<sub>4</sub>NI > Me<sub>4</sub>NCl > NaCl ≥ SSWE; per aminoacidi come la L-cistina: SSWE ≥ NaCl > Me<sub>4</sub>NCl > Et<sub>4</sub>NI; b) tali trend possono essere attribuiti, secondo la teoria di Bergen e Long, al diverso comportamento dei sali degli elettroliti ed alle loro proprietà chimico-fisiche: dimensione degli ioni del sale, densità di carica, grado di polarizzabilità, ed anche alla formazione di coppie ioniche tra i leganti e gli ioni degli elettroliti; c) i valori dei coefficienti di attività delle specie neutre si discostano in molti casi dal valore unitario, ed il loro valore è dipendente dalla forza ionica e dal mezzo ionico.

## Effetto della forza ionica sugli equilibri acido–base della L(–)cistina.

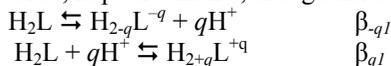
M. Falvo, E. Furia, R. Porto\*

Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Via P. Bucci, 87036 Arcavacata di Rende (CS)

E–mail: e.furia@unical.it

\*Questo lavoro è dedicato alla Professoressa Raffaella Porto venuta a mancare improvvisamente il 18 Maggio 2008.

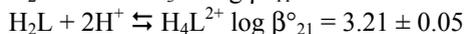
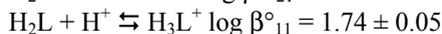
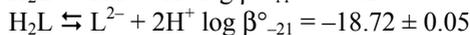
La L(–)cistina ( $H_2L$ ), amminoacido solforato che si ottiene dall'ossidazione della cisteina, contiene diversi atomi donatori di elettroni (ossigeno, zolfo ed azoto) e per questa ragione è ritenuta una molecola con spiccate proprietà leganti nei confronti di alcuni ioni metallici di importanza naturale, quale ad esempio il ferro. Dovendo studiare la competizione tra il protone ed il metallo a carico del legante, è indispensabile, prima di intraprendere l'analisi sulla formazione di specie complesse, determinare le costanti acide della L(–)cistina. In questo lavoro è stato valutato l'effetto della forza ionica sugli equilibri acido-base di questo legante ed è stato, inoltre, determinata la sua solubilità in acqua e a quattro diversi livelli di forza ionica ( $I = 0.5, 1, 2$  e  $3 \text{ mol dm}^{-3}$  in  $\text{NaClO}_4$ ). La L(–)cistina esibisce quattro costanti acide, due di protolisi ( $\beta_{-11}, \beta_{-21}$ ) e due di protonazione ( $\beta_{11}, \beta_{21}$ ), in accordo, rispettivamente, ai seguenti equilibri generali:



I valori delle costanti sono stati determinati alle diverse forze ioniche. Tutte le misure sono state condotte, sotto forma di titolazioni potenziometriche, a  $25^\circ\text{C}$ , mediante la cella(G):

RE / TS / GE (G)

dove GE rappresenta l'elettrodo di vetro, RE è l'elettrodo di riferimento di composizione generale =  $\text{Ag}/\text{AgCl}/0.01 \text{ mol dm}^{-3} \text{ AgClO}_4/(I-0.01) \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4/I \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$ , mentre la soluzione di misura, TS, aveva la seguente composizione generale =  $C_L \text{ mol dm}^{-3} H_2L, C_A \text{ mol dm}^{-3} \text{ HClO}_4, C_B \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaOH}, (I-C_A-C_B) \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaClO}_4$ , dove  $C_L, C_A$  e  $C_B$  sono, rispettivamente, le concentrazioni analitiche molari della L(–)cistina, dell'acido e della base forti. I valori delle costanti acide sono stati determinati sia per via grafica<sup>1</sup> che per via numerica<sup>2</sup>. I dati ottenuti sono stati utilizzati per calcolare i coefficienti di interazione specifica tra il legante e gli ioni del mezzo, necessari per valutare, mediante la Teoria dell'Interazione Specifica<sup>3,4</sup>, i valori delle costanti valide a diluizione infinita. Dai dati ottenuti è stato possibile effettuare l'estrapolazione a forza ionica zero delle costanti di protolisi e di protonazione ed i rispettivi risultati, con i relativi equilibri, sono riportati di seguito:



1. L.G.Sillén, *Acta Chem. Scand.*, **10**, 186, (1956).
2. P.Gans, A.Sabatini, A.Vacca, *J. Chem. Soc. Dalton*, 1195, (1985).
3. L.Ciavatta, *Ann. Chim.*, **70**, 551, (1980).
4. L.Ciavatta, *Ann. Chim.*, **80**, 225, (1990).

## Studio dell'effetto del mezzo sulle costanti di protonazione di classi di leganti

*C. Foti, O. Giuffrè, D. Milea, S. Sammartano*

Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica, Università di Messina, Salita Sperone 31, 98166 Messina (Vill. S. Agata). E-mail: [cfoti@unime.it](mailto:cfoti@unime.it)

Lo studio dell'effetto del mezzo ionico sulle costanti di protonazione di classi di leganti riveste una notevole importanza in chimica analitica e in particolare in chimica analitica ambientale settore in cui la speciazione di un elemento gioca un ruolo fondamentale nel determinare la mobilità e gli effetti tossicologici dell'elemento stesso. Poichè differenti fluidi naturali e biologici hanno una composizione ionica molto differente, ogni volta che un nuovo sistema è esaminato è necessario disporre delle costanti di formazione nelle stesse condizioni del fluido in esame. In letteratura sono noti alcuni database di costanti di formazione, ma presentano diverse lacune per colmare le quali sarebbero necessarie numerose misure sperimentali. La possibilità di ricavare equazioni predittive per il calcolo delle costanti di formazione nel mezzo e nella forza ionica desiderata, rappresenta pertanto un aspetto di rilevante importanza. Tra i modelli più noti per lo studio della dipendenza dal mezzo e dalla forza ionica dei parametri termodinamici, ricordiamo il modello di Pitzer e il modello dell'interazione specifica (SIT). Il primo ha il vantaggio di essere idoneo al calcolo dei coefficienti di attività in un ampio intervallo di forza ionica, ma ha l'inconveniente di necessitare della conoscenza di un numero elevato di parametri di interazione. Il secondo è piuttosto semplice e richiede la conoscenza di un unico parametro di interazione, ma non risulta accurato per  $I < 0.5 \text{ mol kg}^{-1}$  e per  $I > 3 \text{ mol kg}^{-1}$ . Considerando la popolarità e la semplicità della equazione SIT, ci è sembrato interessante valutare la possibilità di raffinare questa equazione al fine di renderla utilizzabile in un ampio intervallo di forza ionica, e già in diversi lavori è stata da noi proposta una versione modificata, in cui il parametro di interazione  $\epsilon$  viene considerato dipendente dalla forza ionica. Qui viene riportato uno studio della dipendenza dal mezzo dei parametri termodinamici di protonazione di tre classi di leganti: carbossilati, ammine ed amminoacidi, in diversi mezzi ionici [(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NCl, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>NI, NaCl, KCl e acqua marina sintetica]. La cospicua mole di parametri di interazione calcolati ha messo in evidenza una forte dipendenza dei parametri stessi dalla carica del polianione, nel caso di leganti carbossilati, e dal grado di protonazione nel caso di leganti amminici. E' stato possibile pertanto ricavare equazioni con un elevato potere predittivo per il calcolo dei parametri di protonazione delle suddette classi di leganti. Interessante è risultata anche la correlazione tra i parametri di interazione dell'equazione di Pitzer ed i parametri della equazione SIT modificata, correlazioni che consentono l'utilizzo con eguali risultati di entrambi i modelli. Le differenze tra le costanti di protonazione nei diversi mezzi sono inoltre state interpretate non solo in termini di interazione specifica, ma anche in termini di formazione di coppie ioniche tra il legante in esame e gli ioni del mezzo.

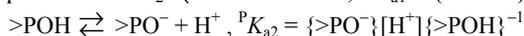
1. C. Bretti, C. Foti, S. Sammartano. *Chem. Spec. Bioavail.* **2004**, 16(3), 105-110.
2. C. Bretti, C. Foti, N. Porcino, S. Sammartano. *J. Solution Chem.* **2006**, 35(10), 1401-1415.
3. F. Crea, A. Giacalone, A. Gianguzza, D. Piazzese, S. Sammartano. *Mar. Chem.* **2006**, 99, 93-105.
4. C. De Stefano, D. Milea, A. Pettignano, S. Sammartano. *Biophys. Chem.* **2006**, 121, 121-130.
5. F. Crea, C. De Stefano, C. Foti, S. Sammartano. *J. Chem. Eng. Data* **2007**, 52, 2195-2203.
6. F. Crea, C. Foti, C. De Stefano, S. Sammartano. *Ann. Chim. (Rome)* **2007**, 97, 85-95

# Chimica di superficie su FePO<sub>4</sub>(am). Proprietà Acido–Base.

M. Iuliano, G. De Tommaso, L. Ciavatta, G. Germano

Dipartimento di Chimica “Paolo Corradini”, Università degli studi di Napoli Federico II, Complesso Universitario Monte Sant'Angelo, Via Cinthia 45, 80126 Napoli

L'inquinamento, originato dal largo e smoderato uso di sostanze contenenti fosfato sia di origine domestica che industriale, ha dato origine ad urgenti strategie mirate alla loro rimozione dai rifiuti come la precipitazione sotto forma di fosfati di ferro(III) ed alluminio(III). I fosfati precipitati di fresco sono colloidali caratterizzati da un grande sviluppo superficiale nonché attivi ai fini dell'adsorbimento di metalli presenti in tracce. Lo scopo di questo progetto è di illustrare i fenomeni di adsorbimento sull'interfaccia del fosfato di ferro(III) idrato amorfo, HFP, in quanto le notizie al riguardo, in letteratura, sono decisamente carenti. I siti responsabili dell'adsorbimento sono sia FeOH che POH presenti in quantità equimolecolari. Le misure sono state eseguite in forma di titolazione potenziometrica, alla temperatura di 25°C e in presenza di un elettrolita inerte come NaClO<sub>4</sub>, impiegando un elettrodo di vetro. In ciascuna titolazione la forza ionica era mantenuta costante ad uno dei seguenti valori (mol/dm<sup>3</sup>): 0.002, 0.010, 0.030, 0.1, 0.3 and 1.0. La concentrazione di equilibrio di H<sup>+</sup> veniva fatta variare nell'intervallo 0.002–0.010 mol/dm<sup>3</sup>, in dipendenza del valore di *I*, fino a 10<sup>-6</sup> mol/dm<sup>3</sup>. La quantità di sospensione adoperata, *a*, variava tra 1.3 g/dm<sup>3</sup> e 3.0 g/dm<sup>3</sup>. In particolare le sospensioni di FePO<sub>4</sub> erano preparate in due differenti maniere. 1) Quantità esattamente equimolecolari di Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> erano mescolate nel mezzo ionico di riferimento e l'acidità in eccesso veniva neutralizzata con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Il prodotto ottenuto è designato come HFP (*situ*) con B.E.T. = 190 m<sup>2</sup>/g. 2) I prodotti commerciali Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O e H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, in rapporto 1:1, venivano mescolati e diluiti con acqua fino ad ottenere una concentrazione in ferro e fosfato uguali e pari a 10<sup>-2</sup> mol/dm<sup>3</sup>. L'acidità in eccesso veniva neutralizzata con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e il solido veniva purificato per decantazione e dialisi fino a quando le acque madri presentavano un pH di 4.9 e una conducibilità elettrica di circa 4–5 μS. Il prodotto ottenuto è designato come HFP (*dialisi*) con B.E.T. = 162 m<sup>2</sup>/g. I dati primari rappresentati da C<sub>A</sub>, concentrazione acido forte, C<sub>B</sub>, concentrazione base forte, [H<sup>+</sup>] e *a* erano ricalcolati in termini della grandezza  $Q = (C_A - C_B + K_w/[H^+] - [H^+])/a$  dove *Q* rappresenta la carica superficiale espressa in mol/kg. La funzione Q(pH) fornisce, in particolare, informazioni sia sul numero di siti per unità di massa sia sulle costanti acide dei siti ferroidrossili e fosfoidrossili. Il numero di siti per unità di massa, T<sub>Fe</sub> (= T<sub>p</sub>), è stato valutato, in particolare, nelle titolazioni a forza ionica di 0.3 e 1.0 mol/dm<sup>3</sup>. Dalla valutazione risulta che T<sub>Fe</sub> = 1.53 ± 0.03 mol/kg per HFP (*situ*) mentre per HFP (*dialisi*) = 1.33 ± 0.03 mol/kg. Nell'intervallo di pH investigato i dati sono consistenti con la presenza dei seguenti due equilibri: >FeOH<sub>2</sub><sup>+</sup> ⇌ >FeOH + H<sup>+</sup>, <sup>Fe</sup>K<sub>a1</sub> = {>FeOH}{[H<sup>+</sup>]}{>FeOH<sub>2</sub><sup>+</sup>}<sup>-1</sup>



dove le K<sub>a</sub> sono costanti apparenti. Le costanti intrinseche vengono valutate secondo il modello della capacità costante secondo cui si ha:  $\log K_a = \log K_{a(\text{intr})} + \alpha Q$ .

<i>I</i> , mol/dm <sup>3</sup>	HFP ( <i>situ</i> )			HFP ( <i>dialisi</i> )		
	–log <sup>Fe</sup> K <sub>a1(intr)</sub>	–log <sup>P</sup> K <sub>a2(intr)</sub>	<i>α</i>	–log <sup>Fe</sup> K <sub>a1(intr)</sub>	–log <sup>P</sup> K <sub>a2(intr)</sub>	<i>α</i>
0.002	4.66 ± 0.01	≈1.4	3.80 ± 0.12	4.8 ± 0.1	≈1.5	3.0 ± 0.3
0.01	4.67 ± 0.05	1.46 ± 0.05	2.05 ± 0.14	4.7 ± 0.1	≈1.5	2.4 ± 0.2
0.03	4.66 ± 0.05	1.3 <sub>8</sub> ± 0.2	1.3 ± 0.3	4.69 ± 0.05	1.4 ± 0.1	1.9 ± 0.2
0.1	4.46 ± 0.05	1.4 ± 0.2	1.0 ± 0.2	4.66 ± 0.05	1.3 <sub>5</sub> ± 0.1	1.2 ± 0.1
0.3	4.24 ± 0.05	≈1.5	0.3 <sub>2</sub> ± 0.2	4.48 ± 0.05	1.53 ± 0.05	0.75 ± 0.05
1.0	4.05 ± 0.10	1.6 <sub>5</sub> ± 0.2	0.2 ± 0.05	4.42 ± 0.10	1.55 ± 0.05	0.43 ± 0.05

## Determinazione di Fe(II) e Fe(III) in preparazioni iniettabili di Fe(III) saccarato e Fe(III) sodio gluconato

*D. Merli, A. Profumo*

Dipartimento di Chimica Generale, Università di Pavia, Via Taramelli 12, 27100 Pavia (PV)  
[daniele.merli@libero.it](mailto:daniele.merli@libero.it)

La terapia parenterale con complessi di ferro(III) è prassi comune nel trattamento di patologie legate alla sideropenia, ed offre una risposta più rapida rispetto al trattamento orale con sali di ferro.

Tra le preparazioni di ferro approvate dall'FDA per la terapia parenterale il sodio gluconato ferrico e il ferro saccarato (1) sono presenti attualmente in molte farmacie (2), compresa la FUI (3).

Per tutti questi preparati, essendo complessi polimerici del ferro a stechiometria non definita, è importante conoscere il contenuto totale di metallo (onde regolarne il dosaggio) e la concentrazione di Fe(II) rispetto al Fe(III) presente, essendo il primo tossico in seguito a iniezione e legato alla comparsa di effetti collaterali anche gravi.

Il metodo presente in farmacia (2) per la determinazione del ferro (II) nel saccarato e nel gluconato prevede la polarografia normale pulsata all'elettrodo di mercurio a goccia pendente; il metodo è però poco riproducibile, impiega grosse quantità di Hg e risente di una scarsa precisione.

E' stato pertanto messo a punto un metodo voltammetrico con tecnica differenziale pulsata (DPV) su elettrodo di Hg a goccia pendente per la determinazione del Fe(III) e del Fe(II), basato sul valore del rapporto dei segnali (area) Fe(III)/Fe(II) e Fe(II)/Fe(0). Allo stesso risultato si può pervenire con il metodo delle aggiunte standard usando la stessa tecnica DPV.

L'accuratezza del metodo è stata verificata mediante titolazione potenziometrica, la quale prevede la determinazione del Fe(II), previa distruzione del complesso con  $\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$  1:1, con una metodica anch'essa messa a punto nel nostro laboratorio e valida sia per il saccarato che per il gluconato

Entrambe i metodi permettono di ottenere risultati ampiamente in grado di soddisfare i criteri di purezza richiesti dalle varie farmacie. Il metodo voltammetrico, a differenza di quello potenziometrico, consente di valutare contemporaneamente la presenza di complessi del ferro a basso peso molecolare, che devono risultare assenti per la loro tossicità (2,3).

Con entrambe i metodi si possono determinare quantità di Fe(II) < 0,05% del Fe totale e concentrazioni di Fe(III) dell'ordine dei ppm.

1. Goodman and Gilman, Le basi farmacologiche della terapia XI Ed.(2006), Mc Graw Hill, 1422-1450
2. USP 30 ed. alle voci: ferro saccarato e ferro gluconato, 2401-2402
3. FUI, XI ed. alle voci: ferro saccarato e ferro gluconato.

# Determinazione di nitroderivati aromatici in terreni e acque tramite elettrodi chimicamente modificati con SWCNT

*A. Profumo, D. Merli, G. D'Agostino, M. Pesavento*

Dipartimento Chimica Generale –Università di Pavia  
V. Taramelli 12 27100 Pavia

La determinazione di 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) e dei suoi prodotti di decomposizione in suoli ed acque riveste una grande importanza per la possibilità di identificare siti inquinati in seguito alla produzione o detonazione di ordigni basati su questo esplosivo, attualmente ancora molto utilizzato.

Le metodiche di screening comunemente impiegate si rivelano spesso costose (GC-MS) o soffrono di gravi problematiche a causa delle possibili interferenze (metodiche polarografiche).

Nel nostro laboratorio era già stato studiato il comportamento voltammetrico del TNT su diversi elettrodi e tra questi avevano dato risultati interessanti elettrodi d'oro chimicamente modificati tramite cicloestrine.

Ulteriori indagini hanno messo in luce la possibilità di effettuare determinazioni analitiche del TNT su elettrodi modificati con nanotubi di carbonio a parete singola (SWCNT), in grado di evitare gli effetti di fouling dell'elettrodo che molto spesso si osservano operando con campioni reali e, in virtù del più facile trasferimento elettronico, in grado di offrire una maggiore sensibilità (con gli elettrodi da noi preparati si osserva un LOQ dell'ordine di 100 ppb operando in voltammetria differenziale pulsata). La preparazione dell'elettrodo prevede la formazione di un legame ammidico tra i nanotubi derivatizzati con funzione carbossilica ed elettrodi d'oro precedentemente modificati con monostrati di cisteamina, in presenza di un agente condensante (DCC). L'elettrodo così modificato è stato anche impiegato per la determinazione del TNT tramite tecnica fotoelettrochimica (cronoamperometria in presenza di luce), ottenendo LOQ di 25 ppb.

Le condizioni sperimentali e i parametri elettrochimici sono stati messi a punto su soluzioni sintetiche e successivamente l'indagine è stata estesa a campioni ambientali quali acque naturali e terreni. Per la determinazione in campioni di terreni si è ottimizzata la procedura di estrazione del TNT mediante acetonitrile e cambio di solvente (acqua); prove di recupero su terreni aventi caratteristiche diverse (silice, carbonio totale, azoto, ecc) non hanno evidenziato interferenze significative.

Composti di analoga struttura quali DNT (2,4-dinitrotoluene), acido picrico (2,4,6-trinitrofenolo), 2,4,6-trinitrobenzaldeide e acido 2,4,6-trinitrobenzoico, ma anche cloramfenicolo e pesticidi organo fosforati contenenti nitrogruppi aromatici, sono stati indagati quali possibili interferenti.

1. J.C. Chen, J.L. Shih, C.H. Liu, M.Y. Kuo, J.M. Zen, *Anal. Chem.*, 2006, 78, 3752.
2. J. Wang, *Electroanalysis*, 2007, 19, 415.
3. A. Profumo, M. Fagnoni, D. Merli, E. Quartarone, S. Protti, D. Dondi, A. Albini, *Anal. Chem.* 2006, 78, 4194.

## **Tecniche chemiometriche nell'archeometallurgia: studi di classificazione e di provenienza di minerali e antichi oggetti di rame**

*B. Giussani*, \**M. Marelli*\*, *S. Recchia*\*, *I. Giunti*<sup>†</sup>, *I. Angelini*<sup>†</sup>, *G. Artioli*<sup>†</sup>

\*Dipartimento di Scienze Chimiche e Ambientali, Università degli Studi dell'Insubria, Como

<sup>†</sup>Dipartimento di Geoscienze, Università di Padova, Padova, Italy

La provenienza dei minerali utilizzati per la fabbricazione di oggetti metallici preistorici è una delle principali questioni che gli archeologi pongono alla moderna archeometria. L'idea è quella di poter correlare un oggetto di rame preistorico, sia esso un manufatto oppure un resto del procedimento di fusione quale ad esempio una scoria, con la miniera dalla quale fu estratto il minerale grezzo. Per ottenere queste informazioni è necessario caratterizzare dal punto di vista chimico e isotopico i minerali provenienti da quelle che furono le miniere storiche di estrazione del metallo, con lo scopo di avere per ciascuna di esse una sorta di "impronta digitale" che le possa distinguere univocamente le une dalle altre.

Se da un lato è necessario quindi avere tecniche analitiche sensibili che siano in grado di misurare elementi minoritari e rapporti isotopici in una matrice formata prevalentemente da rame, dall'altro è necessario trovare un sistema per poter classificare minerali provenienti dalla stessa miniera e differenziare le diverse miniere sulla base dei dati chimici e isotopici.

Nel corso degli ultimi anni è stato sviluppato dal nostro gruppo di ricerca un protocollo analitico per la determinazione di elementi maggioritari, minoritari, terre rare e rapporti isotopici di rame e piombo in minerali di rame provenienti da alcune delle più importanti miniere storiche alpine e appenniniche, a partire dal campionamento fino alla fase di trattamento del dato analitico. Le analisi quantitative sono state condotte mediante Plasma-source Quadrupolar Mass Spectrometer (ICP-QMS) equipaggiato con cella di collisione. La prima fase del lavoro ha portato ad avere il primo database completo esistente per le miniere di rame storiche alpine.

Un primo tentativo di classificazione dei minerali di rame indagati in accordo con la provenienza è stato effettuato, sulla base della poca letteratura esistente, impiegando tecniche statistiche classiche, con risultati scarsi. Data la complessità dei dati, l'esigenza di utilizzare metodi più completi che tenessero conto simultaneamente di tutte le variabili chimiche e isotopiche misurate ha portato all'utilizzo di metodi chemiometrici.

Tecniche di analisi multivariata quali analisi delle componenti principali (PCA) e analisi discriminante-PLS (PLS-DA) sono state quindi impiegate per classificare i minerali di rame indagati in accordo con la provenienza.

Una selezione delle variabili è stata effettuata con lo scopo di valutare quali fossero gli elementi chimici che caratterizzano le diverse mineralizzazioni, informazioni che potrebbero avere anche una importante valenza geologica nello studio dei processi di formazione dei giacimenti minerari.

Il modello ottenuto, in grado di discriminare le miniere di rame, è stato applicato nello studio della provenienza di antichi oggetti e di scorie di fusione ritrovate in Veneto e Alto Adige. La classificazione ottenuta è in accordo con la provenienza ipotizzata per i manufatti oggetto di indagine.

## Studio dell'olio e.v. di oliva durante lo stoccaggio mediante NIR e metodi chemiometrici

*M. Casale, P. Oliveri, C. Casolino, M. Forina.*

Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche ed Alimentari, Via Brigata Salerno 13, 16147, Genova, Università degli Studi di Genova, email: monica@dictfa.unige.it.

L'olio d'oliva, come tutte le sostanze grasse, nel tempo subisce delle alterazioni (1): la principale tra queste è l'irrancidimento ossidativo dovuto alla combinazione dell'ossigeno, disciolto nell'olio e presente nello spazio di testa del contenitore, con le molecole degli acidi grassi.

La spettroscopia NIR, consentendo analisi veloci e non invasive di molti prodotti, si è rapidamente diffusa nelle industrie, principalmente nel settore alimentare.

I segnali che si ottengono sono però aspecifici e l'informazione in essi contenuta può essere ottenuta solo attraverso l'impiego di opportune tecniche chemiometriche.

In questo lavoro, gli spettri NIR di 30 oli di oliva sono stati misurati, ad intervalli regolari di un mese, per circa un anno, e confrontati per valutare l'influenza del tempo.

In particolare, due differenti approcci chemiometrici per comprimere l'informazione contenuta negli spettri NIR sono stati utilizzati: l'impiego della trasformata Wavelet (2) e la scelta di variabili rilevanti mediante algoritmo di decorrelazione progressiva dei predittori (3,4).

Infine l'Analisi Discriminante Lineare (LDA) e Partial Least Square Regression (PLS) sono state utilizzate rispettivamente per discriminare i campioni sulla base del loro invecchiamento e per cercare una possibile relazione tra gli spettri NIR e il tempo di stoccaggio.

I risultati ottenuti dimostrano che è possibile sviluppare un modello per prevedere la conservabilità dell'olio di oliva durante lo stoccaggio e che la trasformata Wavelet si è dimostrata una valida alternativa alla scelta delle variabili rilevanti, come strategia per comprimere l'informazione contenuta negli spettri NIR

1. Méndez and E. Falqué *Food Control* **2007**, 18, 521-529.
2. B.Walczak, D.L.Massart *Chemometrics Intell.Lab.Systems* **1997** 38, 39-50.
3. B.R Kowalski and C.F. Bender *Journal of Pattern Recognition* **1976** 8, 1-4.
4. M. Forina, S. Lanteri, M. Casale and M.C. Cerrato Oliveros *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **2007**, 87(2), 252-261.

# Sviluppo di un modello di calibrazione per il controllo di qualità nella produzione di copolimeri etilene/propilene mediante l'utilizzo della spettroscopia FT-IR, di metodi di regressione multivariata e reti neurali artificiali

*M. Bobba, \*E. Marengo, \*E. Robotti, \*M. Demartini, \*O. Zerbinati, \*S. Di Martino †*

\*Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita, Università del Piemonte Orientale, 15100  
Alessandria, ITALY

†Polimeri Europa, Ferrara Plant, 44100 Ferrara, ITALY

L'obiettivo di questo lavoro è lo sviluppo di un metodo di calibrazione in grado di correlare la concentrazione di propilene presente nei copolimeri etilene/propilene con il loro spettro infrarosso. Gli elastomeri etilene/propilene costituiscono una famiglia di prodotti amorfi le cui proprietà sono dovute all'elevata flessibilità della catena macromolecolare. La variazione della composizione e le varie distribuzioni delle unità monometriche comportano caratteristiche applicative differenti: per questa ragione è necessario tenere sotto controllo le informazioni strutturali correlate con le proprietà dei copolimeri.

Il metodo di regressione PLS e le reti neurali artificiali (ANN) sono state applicate per la determinazione della concentrazione di propilene di un set di 90 campioni di copolimeri etilene/propilene dal loro spettro infrarosso.

Il set di campioni disponibili è stato suddiviso in: (a) un training set, per calcolare il modello; (b) un test set per determinare il numero corretto di componenti principali per PLS e per determinare la fine dell'addestramento delle reti neurali; (c) un production set per valutare la reale capacità predittiva dei modelli di regressione.

La suddivisione del dataset nei tre set indicati è stata effettuata utilizzando un particolare tipo di rete neurale che si basa sulla similarità tra i campioni, le mappe di Kohonen (SOMs). In questo modo è stato possibile costruire un training set il più rappresentativo possibile del dominio sperimentale costituito dai 90 campioni.

Lo studio finale ha coinvolto la ricerca del punto di caduta dei modelli di regressione (PLS e ANN); questo lavoro consiste nel diminuire progressivamente il numero di campioni inseriti nel training set e valutare ad ogni step la capacità predittiva dei modelli.

Alla luce dei buoni risultati ottenuti si può concludere che l'utilizzo della spettroscopia FT-IR integrata con i metodi di regressione multivariata può essere impiegata con successo nel monitoraggio delle sintesi dei copolimeri etilene/propilene attraverso la predizione della concentrazione di propilene direttamente lungo la linea di processo.

E. Marengo, M. Bobba, E. Robotti, M. Lenti *Anal. Chim. Acta* **2004**, *511*, 313-322.

E. Marengo, M. Bobba, E. Robotti, M. Lenti, C. Soave, M.C. Gennaro *Ann di Chim* **2004**, *94*, 219-228.

# **Valutazione del segnale e del rumore nella calibrazione di uno spettrometro di massa ESI con trappola ionica mediante metodi statistici multivariati di pattern recognition**

*E. Robotti, E. Marengo, F. Gosetti, M. C. Gennaro*

Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita – Università del Piemonte Orientale – Via Bellini 25/G – 15100 Alessandria – e-mail: [robotti@mfn.unipmn.it](mailto:robotti@mfn.unipmn.it)

Come noto, la spettrometria di massa è una delle tecniche analitiche più utilizzate soprattutto come tecnica ifenata in accoppiamento con la cromatografia liquida. Inoltre, l'utilizzo della sorgente ESI accoppiata ad un analizzatore a trappola ionica permette di condurre studi strutturali permettendo di eseguire esperimenti MS<sup>n</sup>. Dato l'elevato numero di parametri relativi sia alla sorgente che all'analizzatore che devono essere impostati prima di eseguire qualsiasi esperimento in MS è necessario procedere alla calibrazione della stessa prima dell'esecuzione di qualsiasi serie di misure. La fase di calibrazione prevede solitamente l'utilizzo della miscela di standard fornita dalla casa costruttrice con un pattern di m/z che copre l'intero intervallo di lavoro dell'analizzatore. La calibrazione è di solito condotta su una serie ristretta di alcuni segnali m/z selezionati (tipicamente 5 o 6) che coprono l'intero range a disposizione, cercando di aumentare l'intensità degli m/z selezionati a scapito degli altri segnali. Il lavoro qui presentato è volto all'identificazione di un metodo per definire il segnale e il rumore a partire da uno spettro di massa complesso come quello fornito da un tipico standard di calibrazione, in modo da fornire una funzione target durante la fase di calibrazione basata non su un ristretto numero di masse individuate dall'utente ma su un intero pattern di segnali automaticamente individuati come rappresentativi del segnale. Lo spettro fornito dallo strumento, che nel nostro caso copre l'intervallo di masse da 50 a 2000 uma, viene perciò separato in due contributi: uno legato al segnale e l'altro legato al rumore. Questo approccio permetterebbe di valutare quindi anche in esperimenti MS il parametro S/N che normalmente viene fornito solo quando la spettrometria di massa è accoppiata ad una separazione cromatografica. Il lavoro qui proposto è stato eseguito con uno strumento Finnigan LCQ Duo equipaggiato con una sorgente ESI e un analizzatore a trappola ionica. Sono stati eseguiti esperimenti nelle condizioni standard di utilizzo dello strumento, registrando il segnale nell'intero range di m/z a disposizione, per lo standard di calibrazione fornito dalla ditta produttrice dello strumento stesso sfruttando un numero di scansioni variabile in modo da valutare la risposta dello strumento su un intervallo di tempo significativo e valutare nel contempo l'esistenza di drift o trend nel segnale registrato. Gli esperimenti sono stati condotti sia alla concentrazione dello standard suggerita dal produttore sia iniettando lo standard di calibrazione a concentrazioni crescenti e decrescenti, in modo da valutare la risposta nelle condizioni tipiche di utilizzo come rivelatore in HPLC-MS. La funzione target è stata identificata sia mediante l'utilizzo dell'analisi delle componenti principali che ha permesso di mettere in evidenza contributi indipendenti di informazione, sia sfruttando diversi indicatori in grado di fornire un indice del segnale e del rumore totali (media, mediana, somma). Questo approccio fornisce un metodo automatico di valutazione del segnale e del rumore in esperimenti MS e gli studi condotti hanno anche permesso di approfondire i meccanismi in gioco in esperimenti MS e evidenziare la presenza di drift e trend strumentali ancora in fase di valutazione da parte del nostro gruppo di ricerca.

OAM\_1

## Results from the 7th Circuit INTERlaboratory for Dioxins (CIND)

*S. Raccanelli*<sup>\*</sup>, *S. Libralato*<sup>†</sup>

<sup>\*</sup> Consorzio I.N.C.A., VEGA-Edificio Cygnus, Via delle Industrie 21/8, 30175 Marghera (VE),  
[s.raccanelli@unive.it](mailto:s.raccanelli@unive.it)

<sup>†</sup> Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale, Borgo Grotta Gigante 42/c,  
34010, Sgonico (TS)

In this work we present results of the 7th Circuit INTER-laboratory for Dioxins (CIND), concerning the determination of PCBs, PCDD/Fs and PAHs in one sample of environmental matrix (lagoon sediment). In this 2007 edition the sample was sent to 52 laboratories that were asked to provide analyses in 3 replicates for the same sample. Results were received from 46 laboratories among which 3 provided only one replicate. Not all laboratories provided results for all classes of compounds. Raw data were subjected to a first check for gross errors, then the estimation of main statistical indexes permitted the detection of outliers that were removed. The procedure for removing outliers was repeated twice. The final dataset was used for estimating main statistical indexes and the performance of each participant was evaluated by means of the z-scores that were estimated for each congener and toxicity value (Van Bavel, 2000). The presence of three replicates represented an innovation with respect of precedent editions (Raccanelli et al., 2007) that allowed to obtain useful insights from the intercalibration study on the laboratories performance in terms of both accuracy and precision. The samples used in all CIND editions are stored and therefore they provide an archive of test samples, which are available upon request and could be used by laboratories for further testing their performances.

Van Bavel B., Fifth Round of the International Intercalibration Study, Umea University, **2000**.

Raccanelli S., Petrizzo A., Favotto M. and Pastres R. (2007). Results from the 6th round of the italian intercalibration study for PCDD/F, PCB and PAH in fly ash and sediment. *Organoh. Comp.*, **2007**, 69, 982-985.

# Application of analytical pyrolysis to study source apportionment of atmospheric aerosol

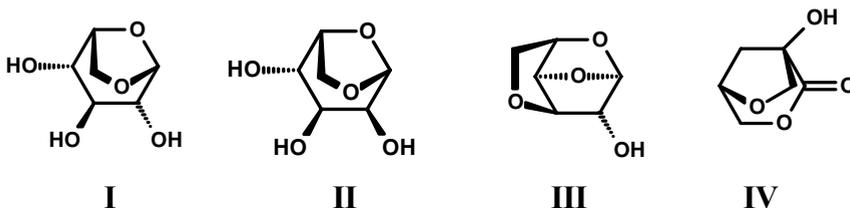
*C. Torri*,\* *D. Fabbri*,\* *L. Marynowski*<sup>†</sup>, *B. R. T. Simoneit*<sup>§</sup>

\* C.I.R.S.A., University of Bologna, Via S.Alberto 163, 48100 Ravenna, Italy

<sup>†</sup> University of Silesia, Faculty of Earth Sciences, Sosnowiec, Poland

<sup>§</sup> Department of Chemistry, Oregon State University,  
Corvallis, Oregon, USA

Combustion of organic materials (fossil fuels, wastes, biomass) may contribute significantly to the pool of fine particles found in the atmosphere. The chemical composition of combustion-particles is characterized by compounds formed through pyrolytic processes.<sup>1</sup> For this reason, analytical pyrolysis could be a valid tool to study the formation of pyrogenic compounds that could be found in the atmosphere.<sup>2-3</sup> Selected pyrogenic compounds can be utilized as molecular markers to source apportionment study of atmospheric pollution. For instance, levoglucosan (**I**) is a pyrolysis product typical of cellulose, and is analysed in environmental samples as a marker for biomass combustion. Mannosan (**II**) is characteristic of hemicelluloses, and may differentiate hardwood from softwood smoke. Other anhydrosugars, such as 1,4:3,6-dianhydro- $\beta$ -D-glucopyranose (**III**) and 1-hydroxy-3,6-dioxabicyclo[3.2.1]octan-2-one (**IV**) are minor and less investigated pyrolysis products. In this work, a procedure based on analytical off-line pyrolysis was developed to the aim at evaluating the release of source-specific compounds from the thermal treatment of organic materials utilizable as fuels. The attention was focused on the pyrolytic formation of saccharide derivatives, such as (**I-IV**), from woody biomass and lignite coals. Few mgs of sample were flash pyrolysed at 700 °C under nitrogen with a commercial heated filament pyrolyser, the evolved pyrolysis products were trapped onto an adsorbent, eluted with acetonitrile, trimethylsilylated and analysed by GC-MS. Internal calibration with methyl- $\beta$ -L-arabinopyranoside was employed for quantitation. The precision, LOD, and other analytical characteristics of the procedure were measured. Data from analytical pyrolysis were compared to those obtained from preparative pyrolysis experiments with a fixed bed reactor and from the analysis of particulate matter emitted from combustion tests. Such a comparison highlighted benefits and limits of analytical pyrolysis. The results from all the techniques consistently indicate that the typical markers of wood combustion, such as levoglucosan, are not only specific of recent biomass, but can also be emitted at comparable levels from some Miocene lignites utilized as fuels.



1. B.R.T.Simoneit, *Appl.Geochem.* **2002**, *17*, 129-172.
2. D.Fabbri, V.Bevoni, M.Notari F.Rivetti, *Fuel*, **2007**, *86*, 690-697.
3. D.Fabbri, L.Marynowski, M.J. Fabiańska, M.Zatoń, B.R.T. Simoneit. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 2957-2963.

## Interazione tra erbicidi e matrici naturali

M.C. Cavallero, L. Colonna, D. Fabbri, M. Ginepro, E. Pramauro, M. Zambrotta, V. Zelano

Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università di Torino

Via. P. Giuria 5, 10125 TORINO

[vincenzo.zelano@unito.it](mailto:vincenzo.zelano@unito.it)

La contaminazione di sistemi acquatici da parte degli erbicidi è una conseguenza dell'agricoltura intensiva.

Gli studi relativi all'evoluzione di tali molecole ed ai loro prodotti di degradazione sono essenziali, insieme alle conoscenze dei loro effetti, per la valutazione del rischio ambientale. Questi studi, infatti, forniscono informazioni sui loro processi di *sorption*, degradazione e mobilità nel suolo, nei sedimenti acquatici, nell'acqua e nei vegetali.

La ripartizione tra le fasi solida e liquida è il processo chiave per comprendere il trasporto e la distribuzione di un contaminante organico. La degradazione è il processo che genera prodotti di diverso comportamento e di differenti effetti ambientali.

La trasformazione di un composto organico può avvenire in ognuno dei comparti del sistema idrico naturale mediante reazioni chimiche, fitochimiche e biochimiche. Ognuno di questi processi è determinato da vari e variabili fattori ambientali che, a loro volta, dipendono da numerosi processi fisici e biogeochimici.

L'analisi chimica risulta quindi un mezzo necessario a fornire dati sulla persistenza del composto organico e sull'evoluzione dei suoi prodotti di degradazione che, in alcuni casi, possono rivelarsi più tossici e persistenti della molecola originaria.

Nel presente lavoro è stata seguita in laboratorio, con sistemi pseudo naturali (sedimenti, acqua, piante e terreno), l'evoluzione dell'erbicida *linuron*, un fitofarmaco ad azione residuale per il controllo di infestanti quali graminacee e dicotiledoni, con lo scopo di valutare la sua ripartizione tra l'acqua e le diverse matrici solide, la sua velocità di scomparsa ed il suo tempo di semivita. Le degradazioni dell'erbicida sono state condotte in presenza dei sedimenti del fiume Po, in presenza della *Lemna minor*, macrofita galleggiante acquatica, della pianta del riso (*Oriza Sativa*) e della pianta di grano (*Triticum sativium*) in terreni inquinati con i fitofarmaci.

Sono state altresì condotte delle degradazioni del *linuron* in soluzione acquosa con l'ausilio della luce solare simulata e della radiazione UV, in presenza o meno di ossido di zinco come catalizzatore. Nei corpi idrici naturali le radiazioni luminose e gli ossidi metallici possono avere un ruolo importante nella degradazione degli inquinanti.

La concentrazione del substrato residuo è stata determinata mediante HPLC-UV, mentre l'identificazione dei prodotti di degradazione nelle differenti matrici è stata effettuata mediante GC-MS ed HPLC-MS.

R.F. de Carvalho, PhD Thesis University of Portsmouth, UK, **2004**.

M.Canle López, M.I. Fernández, S. Rodríguez, J. A. Santaballa, S. Steenken, and E.Vuliet, *ChemPhysChem*, **2005**, 6, 2064-2074

## **Analisi HPLC/PDA di fitormoni nei fertilizzanti: sviluppo del metodo e validazione statistica**

*G. L. Gambino, P. Pagano, M. Scordino, L. Sabatino,  
E. Scollo, P. Traulo, G. Gagliano*

Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali  
Ispettorato Centrale per il Controllo della Qualità dei Prodotti Agroalimentari  
Laboratorio di Catania, Via Varese 45, 95123 Catania  
Tel: +39 095 7310211. Fax: +39 095 365066. e-mail: [gl.gambino@politicheagricole.gov.it](mailto:gl.gambino@politicheagricole.gov.it)

Sulla base di quanto espresso dal Regolamento CE 2003/2003 in merito ai concimi CE, il Decreto Legislativo n. 217/2006 riorganizza l'impianto normativo che regola il controllo dei fertilizzanti CE e nazionali. Una delle novità del D.Lgs. 217/2006 consiste nella introduzione della categoria merceologica dei "biostimolanti", stabilendo che "l'attività biostimolante non deve derivare dall'aggiunta di sostanze ad azione fitormonale al prodotto". Nell'ambito del controllo ufficiale di tale tipologia merceologica, è pertanto necessario disporre di metodi di analisi validati che consentano l'individuazione e la quantificazione di sostanze ad azione fitormonale nei biostimolanti. Il presente lavoro propone una metodica analitica HPLC/PDA semplice, affidabile, robusta ed adatta ad analisi di routine per la determinazione simultanea di 12 fitormoni naturali e di sintesi (PGRs: 1-naftolo, 2,4-D, 2,4-DB, 4-CPA, IAA, IBA, dichlorprop, MCPA, NAA, NAD,  $\beta$ -NOA, thidiazuron) nei fertilizzanti con dichiarata attività biostimolante. Il metodo analitico è stato validato sperimentalmente, valutando per i 12 PGRs i seguenti parametri statistici: linearità, precisione (RDS, %) e accuratezza (E, %) a tre livelli di concentrazione (0,1%, 0,05% e 0,01% m/m), robustezza (Youden test), limite di rivelazione (LOD) e quantificazione (LOQ). I risultati hanno mostrato un ampio range di linearità (0,6-25 mg/L), coefficienti di correlazione lineare  $r^2 > 0,996$ , precisione RSD% < 6,2% e recuperi compresi nel range 79-104%. I valori di LOD e LOQ, rispettivamente inferiori a 0,005 e 0,007 % m/m, risultano più che adeguati ai livelli di concentrazione dei PGRs nei biostimolanti del commercio, come risulta dall'applicazione della metodica al controllo di prodotti commerciali. L'incertezza di misura (U) è stata calcolata ai tre livelli di concentrazione studiati, utilizzando l'approccio metrologico (GUM) ai fini della valutazione critica dei contributi al dato analitico. I risultati evidenziano una incertezza relativa U% variabile dal 3 al 9% per i livelli 0,1 e 0,05% m/m, e non superano il 20% nel caso del livello 0,01% m/m.

G. Gagliano, R.M. Maestro *Fertilitas Agrorum* **2006**, 1, 103-107.

ISO/IEC Guide 98:1995. Guide to the expression of uncertainty in measurement, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland. **1995**

G.L. Gambino, P. Pagano, M. Scordino, L. Sabatino, E. Scollo, P. Traulo, G. Gagliano. *J. AOAC Int.* **2008**, in press.

## **Direct determination of Platinum Group Element (PGE) emissions in passenger cars equipped with Diesel Particulate Filters (DPF).**

*W. R.L. Cairns<sup>1</sup>, A. De Boni<sup>2</sup>, G. Cozzi<sup>2</sup>, M. Asti<sup>3</sup>, E. Merlone Borla<sup>3</sup>, F. Parussa<sup>3</sup>, P. Cescon<sup>1,3</sup>, C. Boutron<sup>4</sup>, C. Barbante<sup>1,2</sup>.*

<sup>1</sup>Institute for the Dynamics of Environmental Processes – CNR, Dorsoduro, 30123 Venice, Italy.

<sup>2</sup>Department of Environmental Science, University of Venice, Dorsoduro, 30123 Venice, Italy.

<sup>3</sup>Centro Ricerche Fiat, Strada Torino, 10043 Orbassano (TO), Italy

<sup>4</sup>Laboratoire de Glaciologie et Géophysique de l'Environnement, UMR CNRS 5183, B.P. 96, 38402, Saint Martin d'Hères Cedex, France

Over the few last years there has been an increasing concern about the possible drawbacks in the use of the automobile catalytic converters; in fact, the ever increasing exploitation of these devices has led to an increasingly widespread emission of PGEs into the environment as a consequence of mechanical and thermal abrasion of the catalysts. It is believed that PGEs are released by the catalytic converters in a particulate form, mainly in the (0) oxidation state or as oxides, and it has been shown that they undergo environmental transformations into more reactive species which may be bio-available. For this reason more specific research is necessary to estimate the real amount of PGEs released into the environment by catalytic converters.

In this presentation the applied methodology to determine PGE emission factors through direct measurements at the end of a catalytic converter of a diesel powered vehicle and the results obtained are described.

The behaviour of different post-treatment devices was checked in order to have a wider outlook. Both new and aged catalytic converters fitted with particulate traps were monitored. The samples were analysed by an analytical methodology based on the use of the ICP-MS technique combined with a sensitivity enhancing sample introduction system and cation exchange cartridges.

The final results show that most of the emitted PGEs are in the particulate phase and characterised by a composition similar to the PGEs originally deposited on catalyst substrate. Moreover, an important reduction of these emissions was observed in the presence of a particulate filter in the exhaust line.

## Composizione e analisi chemiometrica del PM10 monitorato nell'area urbana della città di Torino

*M. Malandrino*<sup>\*</sup>, *O. Abollino*<sup>\*</sup>, *A. Giacomino*<sup>\*</sup>, *C. E. Casalino*<sup>\*</sup>, *M. Di Martino*<sup>†</sup>,  
*M. Grosa*<sup>†</sup>, *E. Mentasti*<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup> Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Torino, via P. Giuria 5, 10125 Torino

<sup>†</sup> A.R.P.A. Piemonte, Dipartimento Provinciale di Torino, via Pio VII 9, 10135 Torino

L'inquinamento atmosferico causato da particelle sospese è ancora un problema di grande attualità nonostante negli ultimi decenni siano stati ottenuti notevoli progressi in termini di qualità dell'aria. Si è evidenziato inoltre che non è sufficiente conoscere le quantità di materiale particolato sospeso, ma è indispensabile studiare anche la sua composizione elementare. Gli effetti tossici delle particelle fini, infatti, sono fortemente dipendenti dal contenuto in metalli in esse presente, che è altamente variabile dato che dipende da molteplici fattori (sorgenti primarie e secondarie, condizioni climatiche, etc.). Inoltre la conoscenza della composizione delle polveri sottili permette di individuarne le differenti sorgenti naturali e/o antropiche e, quindi, di rilevare eventuali situazioni di emergenza ambientale relative alla qualità dell'aria e predisporre di conseguenza provvedimenti specifici alla problematica affrontata.

Alla luce di quanto detto, in questo studio ci siamo occupati inizialmente di sviluppare procedure di analisi che permettessero di caratterizzare la composizione chimica in componenti inorganici (As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Pt, Pd, Rh e Zn) del particolato atmosferico PM10 mediante l'impiego di campioni certificati. Da questi studi è emerso che è necessario impiegare tecniche analitiche altamente sensibili come la spettrometria di massa ad alta risoluzione con sorgente a plasma ad accoppiamento induttivo (HR-ICP-MS) per determinare gli elementi presenti a livello di traccia ed ultratraccia, quali As, Cd, Pt, Pd e Rh, nel particolato atmosferico.

Per caratterizzare il contenuto degli elementi presenti in più alta concentrazione è possibile impiegare anche tecniche analitiche strumentali meno sensibili quali la spettroscopia di emissione atomica a plasma (ICP-AES) e la fluorescenza a raggi X (XRF). Alla luce di questi risultati abbiamo determinato, ove possibile, la composizione elementare dei campioni di polveri fini (PM10) raccolti in due stazioni di campionamento ubicate nella città di Torino mediante analisi XRF. Infatti, questa tecnica strumentale ci permette di determinare il contenuto in metalli presenti in concentrazione sufficientemente elevata senza dover distruggere il campione che, quindi, può essere sottoposto ad ulteriori analisi. Il contenuto delle specie metalliche presenti a livello di traccia ed ultratraccia in questi campioni, invece, è stato determinato mediante HR-ICP-MS.

I risultati ottenuti hanno mostrato che le polveri fini (PM10) presentano una variabilità di tipo stagionale con concentrazioni massive più elevate nei mesi invernali. Per identificare le sorgenti antropiche e/o naturali di provenienza che influenzano la composizione chimica del particolato atmosferico (PM10) da noi considerato, si è eseguito un trattamento chemiometrico dei dati sperimentali ottenuti applicando sia l'Analisi dei Componenti Principali (PCA), sia l'Analisi a Cluster Gerarchico Agglomerativo (HCA).

J.R. Graney, M.S. Landis, G.A. Norris *Atmos. Environ.* **2004**, *38*, 237-247.

F. Petrucci, B. Bocca, A. Alimenti, S. Caroli *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, *15*, 525-528.

## **Analisi in continuo di elementi in tracce in una carota di ghiaccio alpino mediante ICP-QMS**

*G. Cozzi,\* J. Gabrieli,\* P. Vallelonga,† C. Barbante,†\* P. Cescon†\**

\* Dipartimento di Scienze Ambientali, Università di Venezia Ca' Foscari, 30123 Venezia

† CNR-IDPA, Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali, 30123 Venezia

L'analisi di elementi in tracce intrappolati nei ghiacci polari ed alpini ha contribuito negli ultimi decenni alla ricostruzione storica della qualità dell'aria e delle variazioni climatiche. L'accumulo al suolo di successive nevicite, in assenza di significativi processi fusivi, porta alla formazione di un archivio naturale della composizione chimica dell'atmosfera al momento del congelamento.

Attraverso l'analisi chimica di archivi ambientali come appunto le carote di ghiaccio e campioni di neve è possibile determinare i profili storici di concentrazione di numerosi micro-inquinanti immessi in atmosfera. Questo tipo di analisi presenta svariate problematiche di ordine analitico, dovute principalmente ai bassissimi livelli di concentrazione e ai possibili rischi di contaminazione dei campioni.

Per evitare le lunghe e complicate operazioni manuali di decontaminazione delle carote di ghiaccio, è stato messo a punto un innovativo sistema di decontaminazione in continuo. Il sistema è composto da una testa di fusione in nichel in grado di fondere a velocità costante e controllata la carota di ghiaccio, operando contemporaneamente anche una separazione dell'acqua di fusione tra gli strati esterno (contaminato) ed interno della carota stessa. Solo quest'ultimo, non essendo mai entrato in contatto con l'ambiente circostante, non è soggetto a contaminazioni ed è quindi idoneo per l'analisi chimica. Il sistema di fusione è stato quindi accoppiato on-line con uno spettrometro di massa con sistema di ionizzazione al plasma accoppiato induttivamente a quadrupolo (ICP-QMS). In tal modo è stato possibile ottenere un profilo continuo delle concentrazioni di 22 elementi (Li, Na, Mg, Al, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Cd, Ba, Pb, Bi, U), con una risoluzione spaziale di circa 1 cm.

Il valore del bianco è stato costantemente monitorato durante ogni sessione analitica così come sono stati calcolati i limiti di rivelabilità, il recupero tramite materiale certificato di riferimento (CRM) nonché verificata la riproducibilità del metodo.

Su alcuni campioni provenienti da Colle Gnifetti (Monte Rosa, 4450 m s.l.m.) sono state eseguite ulteriori analisi quali la determinazione di Fe, Al, Na, K, Ca, Mg tramite ICP-OES (PerkinElmer, Optima5300) nonché per 19 elementi (Li, Mg, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, As, Rb, Cd, Ba, Pb, Bi, U, Pu) sono state determinate le concentrazioni mediante ICP-SFMS (Element2, ThermoFinnigan) per la validazione del metodo. Il confronto tra i dati di elementi in tracce registrati in continuo mediante ICP-QMS e quelli in discontinuo (campioni ottenuti mediante decontaminazione manuale) mediante ICP-SFMS ha dimostrato un ottimo grado di corrispondenza lungo tutto il profilo della carota, confermando la validità del metodo di analisi in continuo.

## La deposizione di inquinanti organici persistenti (POPs) negli ultimi 500 anni a Talos Dome (Antartide)

*\*R. Fuoco, \*S. Giannarelli, †M. Onor, \*S. Ghimenti, #C. Abete,  
\*M. Termine, \*S. Francesconi*

\*Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Via Risorgimento 35, 56126 Pisa

†Istituto per i Processi Chimico-Fisici del CNR, Via Moruzzi 1, 56124 Pisa

#Istituto per la Chimica dei Composti Organo-metallici, Via Risorgimento 35, 56126 Pisa

Il monitoraggio di parametri chimici associati ai cambiamenti globali del nostro pianeta rappresenta l'obiettivo primario delle ricerche ambientali in Antartide, in considerazione del fatto che questo continente non presenta fonti locali di inquinamento. Per questo motivo, l'Antartide è un laboratorio naturale, unico in tutto il nostro pianeta, dove poter effettuare studi e ricerche finalizzati alla valutazione del contributo di fondo della contaminazione ambientale e del suo andamento temporale. In particolare, l'Antartide è il luogo ideale dove poter "leggere" uno dei più importanti archivi naturali dei cambiamenti della composizione chimica dell'atmosfera: lo strato di neve/nevato/ghiaccio, che permette di ricostruire i profili di concentrazione su varie scale temporali: da poche decine di anni sino alle passate ere glaciali.

In questa comunicazione sono presentati i risultati più significativi relativi alla determinazione di idrocarburi policiclici aromatici (PAHs) e policlorobifenili (PCBs) in due carote di neve/nevato prelevate a Talos Dome (Antartide) nel corso delle spedizioni scientifiche Italiane del 2003-04 e 2004-05. Le due carote hanno permesso di ricostruire il profilo della concentrazione delle due classi di composti negli ultimi 500 anni. Sulla base di una datazione precedentemente effettuata nella stessa area dal gruppo di Glaciologia, è stato possibile: quantificare i livelli di base di questi inquinanti, dai dati relativi al periodo 1500-1800; evidenziare l'aumento del livello di PAHs nell'atmosfera associato al progressivo sviluppo delle attività industriali e confermare la correlazione dei valori massimi osservati con gli eventi vulcanici; e soprattutto correlare, per la prima volta in modo diretto, l'aumento dei PCBs nell'atmosfera con il periodo di produzione ed impiego industriale di questi composti e con le eruzioni vulcaniche.

## Un sistema integrato in Chemical Flow Analysis e Fast Ion Chromatography per la ricostruzione di stratigrafie chimiche in carote di ghiaccio in Antartide.

*M. Severi,\* S. Becagli,\* E. Castellano,\* O. Cerri,\* F. Marino,\*\* A. Morganti,\*  
R. Traversi \*, R. Udisti\*.*

\*Univ. Degli Studi di Firenze – Dipartimento di Chimica – Via della Lastruccia, 3 50019 – Sesto Fiorentino (FI)

†Univ. degli Studi di Milano-Bicocca, Dip. di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, P.za della Scienza, 1 – 20126 - Milano

L'importanza delle carote di ghiaccio ai fini della comprensione dei cambiamenti climatici globali è progressivamente aumentata nelle ultime decine di anni. Le carote di ghiaccio rappresentano, infatti, l'archivio di una grande quantità di informazioni riguardanti le variazioni climatiche ed ambientali del passato per periodi che si estendono fino a quasi un milione di anni. In particolare, lo studio delle stratigrafie chimiche da carote di ghiaccio rappresenta uno strumento insostituibile per l'ottenimento di informazioni dettagliate sulle variazioni del carico e della composizione dell'aerosol atmosferico nel corso delle ultime centinaia di migliaia di anni.

L'approccio classico all'analisi delle carote di ghiaccio consiste nel sub-campionamento seguito da decontaminazione ed analisi di campioni discreti. Questa procedura presenta, però, lo svantaggio di richiedere tempi molto lunghi sia per la decontaminazione che per l'analisi; inoltre la fase di preparazione dei campioni prevede una manipolazione che è una fonte potenziale di contaminazioni accidentali. Per queste ragioni, le perforazioni più recenti in Groenlandia (GRIP, NGRIP) ed Antartide (EPICA DC e DML, Talos Dome) hanno utilizzato metodi analitici condotti direttamente su sezioni di carota fuse ed analizzate in continuo.

Viene qui presentato un sistema di analisi chimica automatizzata in flusso comprendente un apparato di fusione (melter) delle sezioni di carota, il sistema di distribuzione del campione liquido e una serie di sistemi di rivelazione. Le metodologie analitiche utilizzate per la determinazione dei parametri chimici sono basate su tecniche di Fast Ion Chromatography (FIC) e Continuous Flow Analysis (CFA) con detector spettrofotometrici e spettrofluorimetrici. La determinazione di cloruri, nitrati, solfati e, separatamente, fluoruri è stata effettuata tramite metodi FIC per via semicontinua. Sono stati inoltre messi a punto metodi in flow analysis per la determinazione di calcio, alluminio, ferro, perossido d'idrogeno e formaldeide.

Tutte le linee di analisi sono automatizzate e le diverse fasi di trattamento del campione sono gestite via computer rendendo minima e trascurabile la manipolazione dei campioni. Tutti i metodi sviluppati si sono dimostrati affidabili per la determinazione di questi parametri alle basse concentrazioni (ppb o sub-ppb) misurate in carote di ghiaccio perforate in aree sia costiere che di plateau ed hanno permesso la ricostruzione di stratigrafie chimiche ad alta risoluzione temporale di specie chimiche usate come marker climatici ed ambientali. Le elevate prestazioni analitiche (sensibilità, riproducibilità, detection limit) permettono inoltre l'utilizzo di tali metodi su ridotti volumi di campione (pochi mL), incrementando notevolmente la risoluzione temporale.

## **Determinazione di ferro disciolto in acqua di mare mediante coprecipitazione con $Mg(OH)_2$ e analisi ICP-DRC-MS**

*M. Grotti, F. Soggia, R. Frache*

Università di Genova, Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale  
Via Dodecaneso 31, 16146 Genova  
[grotti@chimica.unige.it](mailto:grotti@chimica.unige.it)

Il grande interesse per il ruolo del ferro nella regolazione della produzione primaria oceanica e le conseguenti implicazioni sul clima hanno indotto lo sviluppo di diversi metodi analitici per la sua determinazione in acqua di mare. Tuttavia, il problema analitico è particolarmente complesso, a causa dei bassi livelli di concentrazione (0.05-2.0 nM) e della matrice salina, che causa forti interferenze nella misura strumentale.

In questo lavoro, è stato sviluppato un nuovo metodo per la determinazione di ferro disciolto in acqua di mare, basato sulla coprecipitazione con  $Mg(OH)_2$  e sulla successiva analisi mediante spettrometria di massa con sorgente a plasma ad accoppiamento induttivo (ICP-MS). La coprecipitazione utilizza il magnesio naturalmente presente nel campione e viene indotta dall'aggiunta di un'adeguata quantità di ammonio idrossido ultrapuro. Dopo centrifugazione, il precipitato viene ridisciolto in acido nitrico ultrapuro e analizzato mediante ICP-MS. I parametri operativi ottimizzati sono stati: il pH e il volume di campione, il volume di  $NH_4OH$  e la quantità di  $HNO_3$  per la ri-dissoluzione del precipitato, oltre ai parametri strumentali dello spettrometro ICP-MS. La procedura sviluppata consente una preconcentrazione del ferro di un fattore 5-25 e una significativa rimozione degli elementi maggiori. Le interferenze residue sono state corrette mediante l'impiego della cella di reazione dinamica (DRC), utilizzando ammoniaca come gas di reazione. Gli ioni monitorati sono stati  $^{54}Fe^+$  e  $^{52}Cr^+$ , quest'ultimo per correggere l'interferenza isobarica dovuta a  $^{54}Cr^+$ .

Il metodo è relativamente semplice e veloce ed è caratterizzato da bassi livelli di bianco (0.19±0.03 nM), elevata sensibilità (LOD: 0.09 nM) e buona precisione (RSD%<5%). L'accuratezza della procedura è stata verificata mediante l'analisi dei materiali di riferimento certificati CASS-4 e NASS-5 e di campioni di acqua oceanica con contenuto di ferro particolarmente basso (0.1-0.9 nM), campionati nell'ambito di un programma di intercalibrazione per l'analisi di ferro in acqua di mare (progetto SAFE). La metodica è stata infine applicata all'analisi di campioni di acqua di mare proveniente dall'Antartide.

## **Sviluppo e ottimizzazione di metodi in Sector Field ICP-MS per la determinazione di elementi in tracce, REE's e elementi maggiori in campioni di sedimenti marini**

*F. Rugi,<sup>\*</sup> E. Castellano,<sup>\*</sup> F. Marino,<sup>\*†</sup> M. Severi,<sup>\*</sup> R. Udisti<sup>\*</sup>*

<sup>\*</sup>Dip. di Chimica di Firenze, Via della Lastruccia 3, 50019, Sesto Fiorentino (FI)

<sup>†</sup>Dip. di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Università di Milano-Bicocca, Piazza della Scienza 1, 20126 Milano. [udisti@unifi.it](mailto:udisti@unifi.it)

Nell'ambito del progetto internazionale ANDRILL (Antarctic Drilling Project), è stata messa a punto una metodologia analitica in Sector Field Inductively-Coupled-Plasma Mass-Spectrometry (SF-ICP-MS) ed una in Inductively-Coupled-Plasma Optical-Emission-Spectroscopy (ICP-OES) per la caratterizzazione geochimica di campioni di sedimento marino mediante analisi di elementi in tracce, terre rare (REE's) e maggiori, dopo digestione acida completa della matrice solida. Per le analisi con Sector Field ICP-MS la scelta degli isotopi utilizzati per le misure quantitative e la selezione della risoluzione di massa più idonea sono state valutate in funzione dell'abbondanza isotopica relativa di ogni elemento e delle possibili interferenze isobariche di altri elementi e di ossidi o arginati nella matrice di interesse. Particolare attenzione è stata rivolta alla determinazione del migliore metodo di quantificazione analitica tra curva di calibrazione esterna, standard interno e metodo delle aggiunte interne. Le prestazioni e l'affidabilità dei diversi metodi analitici sono state valutate per mezzo di analisi di campioni certificati. In particolare vengono qui presentati i risultati relativi all'analisi di sei standard certificati: Basalt, Hawaiian Volcanic Observatory (BHVO-1); Japanese Andesite (JA-2); Montana Soil (NIST 2711); Antarctic Sediment (CRM-MURST-ISS-A1); Antarctic Sediment (GBW 073113) e Antarctic Sediment (NIST 2702). Date le concentrazioni estremamente basse (fino a poche centinaia di ppt) con cui alcuni elementi sono presenti nelle soluzioni acide ottenute dalla digestione completa delle matrici solide, è stata dedicata particolare cura allo studio dei livelli di bianco e all'ottimizzazione delle variabili operative di interesse (materiale dei contenitori utilizzati durante la fase di digestione, procedure di lavaggio, tecniche di purificazione degli acidi utilizzati per l'attacco del materiale solido).

## Caratterizzazione delle scorie di incenerimento di RSU per ottimizzare il trattamento di carbonatazione

*M. Piredda*

Dipartimento di Geingegneria e Tecnologie Ambientali – Università degli Studi di Cagliari -  
Piazza d'Armi - 09123 Cagliari

Le scorie di fondo sono il residuo prodotto dall'incenerimento dei rifiuti solidi urbani e il loro trattamento ha una notevole importanza per la gestione sostenibile dei rifiuti. Le frazioni sabbiosa e ghiaiosa possono essere destinate all'industria edilizia date le loro caratteristiche fisiche e meccaniche, ma il rilascio di metalli pesanti da parte loro ne limita l'utilizzo. La carbonatazione determina l'immobilizzazione di alcuni metalli pesanti; il processo naturale richiede almeno 6 mesi, per cui attualmente gli studi sono focalizzati sui processi di carbonatazione accelerata.

Con lo scopo di ottimizzare il processo di carbonatazione si è eseguito uno studio sulla composizione chimica e mineralogica delle scorie con particolare riferimento alle classi granulometriche potenzialmente più ricche di metalli pesanti. A tale fine un campione di circa 100 Kg di scoria è stato prelevato in impianto subito dopo il raffreddamento in acqua, omogeneizzato, quartato e una porzione è stata sottoposta ad analisi granulometrica. Sono state individuate sette classi da  $d \leq 0.106$  mm a  $d \geq 10$  mm; una porzione di ciascuna è stata finemente macinata e sottoposta a fusione e digestione con acidi in microonde; la concentrazione dei metalli è stata eseguita con ICP-OES e ICP-MS; sono stati analizzati il contenuto di carbonio inorganico e organico, le classi mineralogiche sono state sottoposte a diffrazione ai raggi X. È stato effettuato il test di cessione delle scorie (EN 12457-1) ed è stata eseguita l'estrazione sequenziale dei metalli.

Granulometria	d (mm)	$\leq 0.106$	$0.106 < 0.212$	$0.212 < 0.425$	$0.425 < 1$	$1 < 4$	$4 < 10$	$\geq 10$
Frazione tratt.	%	1.07	1.82	5.81	14.91	32.64	28.88	14.87
Zn	mg/Kg	2012	1794	1351	1627	2216	659	1678
Pb	mg/Kg	3226	2554	2357	7737	3741	2174	36300
Cu	mg/Kg	1438	1925	2441	5347	3320	3924	1417
Cd	mg/Kg	7.26	7.99	5.81	8.35	2.91	<LDL	<LDL
Cr	mg/Kg	185	211	160	185	178	268	189
C <sub>inorganico</sub>	%	2.778	0.297	0.808	0.916	0.875	0.489	0.736
C <sub>organico</sub>	%	0.995	0.103	0.805	0.310	<LDL	0.086	<LDL

Dalla diffrazione emerge la presenza di ettringite e calcite nelle frazioni a minore diametro e dominanza di quarzo e cloruro di calcio nelle classi a diametro maggiore. Dai test di cessione si osserva il rilascio di As, Cr, Cu, Pb e Zn. Dall'estrazione sequenziale emerge che il Cd e il Cr sono fortemente legati alla matrice e difficilmente sono rilasciati in condizioni naturali, il Cu è soprattutto legato alla materia organica, il Pb e lo Zn sono legati ai carbonati e rilasciati in funzione delle variazioni di pH dell'ambiente; inoltre il Pb è rilasciato in condizioni ossidanti. Quindi i carbonati di Pb e Zn predominano nelle frazioni fini. Solo le frazioni interessate al potenziale rilascio di metalli pesanti, ossia quelle con diametro uguale o inferiore a 1mm, dovrebbero subire la carbonatazione.

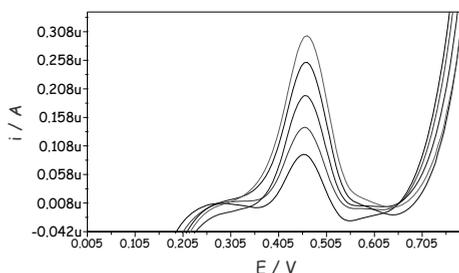
# Elettrodi Modificati con Materiale Composito PEDOT/Nanoparticelle d'Oro per la Determinazione di Mercurio in Tracce Tramite Stripping Anodico

*M. Giannetto*<sup>\*</sup>, *F. Amico*<sup>\*</sup>, *G. Mori*<sup>\*</sup>, *F. Terzi*<sup>†</sup>, *L. Pigani*<sup>†</sup>, *C. Zanardi*<sup>†</sup>, *R. Seeber*<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica  
Università di Parma. Viale G.P. Usberti 17/A 43100 Parma. [marco.giannetto@unipr.it](mailto:marco.giannetto@unipr.it)

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia.  
Via G.Campi 183, 41100 Modena

I polimeri conduttori politiofenici, grazie all'esteso sistema di legami  $\pi$  coniugati, presentano conducibilità elettrica che aumenta notevolmente per parziale ossidazione o riduzione della catena (rispettivamente drogaggio  $p$  e  $n$ ). La conducibilità dei polimeri conduttori risulta ulteriormente incrementata per inclusione di nanoparticelle metalliche. Nell'ambito di questo studio è stato impiegato un materiale elettrodico nel quale nanoparticelle d'oro<sup>1</sup> sono inglobate in poli-(3,4-etilendiossiofene) (PEDOT), su substrato di grafite, e ne sono state valutate le prestazioni elettrochimiche. Sono state adottate due diverse modalità di inclusione delle nanoparticelle: a) durante l'elettrosintesi del PEDOT; b) in un momento successivo all'elettrodeposizione. I materiali nanocompositi così ottenuti si sono rivelati di grande interesse nella determinazione del mercurio, fino a concentrazioni inferiori a 1 ppb. Nell'intervallo di potenziale utile alla preconcentrazione ed alla ridissoluzione del mercurio (0 ÷ +0.6 V, SCE quale elettrodo di riferimento, DPV quale tecnica di stripping) il PEDOT risulta ottimo conduttore, in quanto drogato positivamente, e non se ne evidenziano significative degradazioni ossidative. Il responso analitico è stato studiato ottimizzando parametri quali la carica spesa nella polimerizzazione-deposizione del film polimerico, il potenziale ed il tempo di preconcentrazione, nonché i valori dei parametri della forma d'onda del potenziale.



Curve DPV per concentrazioni di Hg nell'intervallo 1-5 ppb; HCl 0.06 M

1. C. Zanardi, F. Terzi, L. Pigani, A. Heras, A. Colina, J. Lopez-Palacios, R. Seeber *Electrochim. Acta* **2008**, 53, 3916-3923

## **Metodi bioanalitici basati su biosensori a DNA per l'individuazione di doping genetico**

*M. Minunni\**, *S. Scarano\**, *P. Bogani†*, *S. Tombelli\**, *M. Buiatti†*, *M. Mascini\**,

\* Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Firenze, Via della Lastriccia 3,  
Polo Scientifico, 50019 Sesto F.no (FI);

† Dipartimento di Biologia Evoluzionistica "Leo Pardi", Università degli Studi di Firenze, Via  
Romana 17-19, Firenze, Italy  
maria.minunni@unifi.it

The sport and anti-doping authorities fear that the newer form of doping, so-called gene doping, based on a misuse of gene therapy, will be undetectable and thus much less preventable. In 2003, the World Anti-Doping Agency (WADA) included for the first time gene doping in their "Prohibited List of Substances and Methods" as prohibited method, defining it as "the non-therapeutic use of cells, genes, genetic elements, or of the modulation of gene expression, having the capacity to enhance athletic performance". DNA-based biosensor approach based on piezoelectric sensing has been applied for the detection of Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) and Cytomegalovirus (CMV) promoter sequence, used as model systems. Sensor optimization was carried out using synthetic oligonucleotides and application to human DNA performed. The gold on the quartz crystal was modified with 11-mercapto-1-undecanol (MU) and carboxylated dextran to immobilize streptavidin and then the biotinylated probe, according with well established chemistry widely optimized in previous works. 9.5 Mhz AT-cut piezoelectric crystals were employed. The gold on the quartz crystal was modified with MU and carboxylated dextran to immobilize streptavidin and then the biotinylated probe, according with well established chemistry widely optimized in previous works. For each immobilized probe, the calibration curve was obtained by the hybridization with the corresponding complementary oligonucleotide target adding in the range 50-1000 nM. The sensor were re-usables up to 20 times without affecting the sensor performance. PCR samples, obtained by using as template plasmid EGFP-C1 and human cells (HEK-293 cells and HEK-GFP: human embryonic kidney cells) containing both EGFP and CMV sequences, were tested with the relative sensors by PCR. were tested after thermal denaturation. The affinity sensing was demonstrated to be able to detect specifically and reproducibly reference markers commonly used in transgenesis.

Ringraziamenti: M. Minunni, project coordinator, wish to tank the "Ministero della Salute – Commissione per la vigilanza ed il controllo sul doping e per la tutela della salute nelle attività sportive, for founding : "Metodi bioanalitici basati su biosensori a DNA per le nuove frontiere del doping: l'individuazione di geni e proteine esogene" and Prof. A. Arcangeli Dipartimento di Patologia e Oncologia Sperimentale, University of Florence, Italy for transformend human cells (HEK).

## Un biosensore a doppio elettrodo per la determinazione simultanea di fosfocolina e colina in flusso

A. Guerrieri, R. Ciriello

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Via N. Sauro 85 – 85100 Potenza  
(e-mail: antonio.guerrieri@unibas.it)

La colina (Ch) ed i metaboliti ad essa correlati, ad esempio la fosfocolina (PCh), fungono da substrati in molti dei principali percorsi bio-metabolici. L'applicazione della spettroscopia NMR alla scienza medica ha consentito di documentare l'esistenza di una correlazione tra la concentrazione dei composti della Ch e patologie di vario genere quali neoplasmi e disturbi neurodegenerativi. Le usuali metodiche NMR, già di per sé di non facile utilizzo, consentono la misurazione *in vivo* o *ex vivo* della sola concentrazione totale di questi metaboliti. Sono state, quindi, di recente sviluppate tecniche NMR multinucleari in cui grazie alla correlazione tra  $^1\text{H}$  e  $^{31}\text{P}$  si è riusciti a distinguere *ex vivo* la Ch dalla PCh [1]. La mancanza di metodiche analitiche più semplici deriva dalla difficoltà a rivelare specie, quali la Ch ed i suoi metaboliti, sprovviste di gruppi elettroattivi o cromofori.

Nel laboratorio degli autori è stato di recente realizzato un sensore amperometrico bienzimatico a fosfatasi alcalina (ALP) - colina ossidasi (ChO) co-immobilizzate per l'analisi integrata di Ch e PCh in flusso. Nell'ipotesi di voler discriminare il contributo dei due analiti, è necessaria però la loro preliminare separazione mediante HPLC poiché lo schema di rivelazione adottato prevede che la PCh debba essere convertita in Ch per poter essere rivelata [2].

Lo scopo del presente lavoro di ricerca è stato quello di consentire la determinazione simultanea di Ch e PCh nello stesso dispositivo fisico, e cioè a livello del rivelatore, senza dover ricorrere allo step cromatografico. Ciò è stato possibile grazie all'utilizzo di un elettrodo doppio a ChO e a ChO-ALP immobilizzate. Poiché entrambi i sensori rivelano perossido di idrogeno è stato necessario innanzitutto verificare l'assenza di effetti del tipo "cross-talk" [3]. L'analisi di miscele di Ch e PCh nell'intervallo lineare di concentrazione ha evidenziato la specificità dell'elettrodo monoenzimatico alla sola Ch mentre per l'elettrodo bienzimatico il responso globale è risultato additivo. A valori più elevati di concentrazione si è osservata inoltre a carico della PCh una inibizione di tipo non competitivo sulla ChO. Infine, l'impiego di uno strato permselectivo di polipirrolo overossidato ha consentito la realizzazione di un dispositivo esente da problemi di interferenza faradica. I valori di bias sperimentati su Ch e PCh ad opera di comuni sostanze elettroattive sono risultati infatti confrontabili se non inferiori ai limiti di rivelabilità pari a  $2.7\ \mu\text{M}$  per PCh e  $0.19\ \mu\text{M}$  per Ch ( $S/N=3$ ).

1. Loening, N.M.; Chamberlin, A.M.; Zepeda, A.G.; Gonzalez, R.G.; Cheng, L.L. *NMR in Biomedicine* **2005**, *18*(7), 413-420.
2. Guerrieri, A.; Palmisano, F. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2875-2872.
3. Guerrieri, A.; Lattanzio, V.; Palmisano, F.; Zambonin P.G. *Bios. & Bioelec.* **2006**, *21*, 1710-1718.

## Sviluppo di sensori stampati modificati con film di bismuto per la determinazione del $Pb^{2+}$ : applicazioni in campo ambientale e alimentare

J. Calvo Quintana, \*F. Arduini, \*A. Amine, †C. Forni, †G. Palleschi, \*  
R. Braglia, D. Moscone\*

\*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata, Via della Ricerca Scientifica, 1 – 00133 Roma, Italia; Consorzio Interuniversitario Biostrutture e Biosistemi “INBB”, Viale Medaglie d’Oro, 305 Roma, Italia

†Faculté de Sciences et Techniques de Mohammedia, B.P. 146, Mohammedia, Marocco

‡Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tor Vergata, Via della Ricerca Scientifica, 1 – 00133 Roma, Italia

L’analisi del piombo ( $Pb^{2+}$ ) viene effettuata mediante l’utilizzo di tecniche complesse quali l’assorbimento atomico e l’ICP-MS che richiedono lunghi trattamenti del campione, una strumentazione non miniaturizzabile e personale altamente specializzato. Le tecniche elettroanalitiche hanno invece il vantaggio di misurare il  $Pb^{2+}$  con sistema di misura facile e veloce utilizzando elettrodi a goccia o film di mercurio. Data l’alta tossicità del mercurio, diversi paesi europei ad oggi ne vietano l’utilizzo. A tal proposito, in questo lavoro di ricerca sono stati sviluppati sensori basati sull’utilizzo di elettrodi stampati monouso. Gli elettrodi sono stati modificati con film di bismuto, film di bismuto e mercurio, film di Nafion® o polistirilolfonato di sodio (PSS) e bismuto. Le prestazioni analitiche dei sensori sviluppati sono state analizzate utilizzando la tecnica della voltammetria ad onda quadra. I migliori risultati in termini di sensibilità, stabilità e limite di rilevabilità sono stati ottenuti con i sensori modificati con film di bismuto e mercurio o con film di Nafion® e bismuto. Per avere un sistema con un minore impatto ambientale è stato scelto il sensore con il film di Nafion® e bismuto. Sono state quindi ottimizzate le condizioni di deposizione del Nafion® e le condizioni di misura del  $Pb^{2+}$ , come la concentrazione di bismuto, la soluzione di misura, il potenziale e il tempo di accumulazione, la frequenza e il tempo di equilibrio. La misura del  $Pb^{2+}$  in tampone acetato ha permesso di ottenere un limite di rilevabilità (LOD) di 2.0 ppb ed un limite di quantificazione (LOQ) di 6.6 ppb. Tale sensore è stato poi utilizzato per monitorare la capacità della pianta macrofita acquatica *Lemna minor* di accumulare il  $Pb^{2+}$  e quindi per il disinquinamento ambientale tramite Phytoremediation.

Il sensore sviluppato è stato anche utilizzato per la misura del piombo nel latte nel quale la concentrazione massima ammissibile è 20 ppb come fissato dalla Commissione europea. La misura del  $Pb^{2+}$  ha richiesto dapprima lo studio del trattamento del campione utilizzando  $HNO_3$ ,  $HCl$ ,  $HClO_4$ ,  $H_2O_2$ . Il miglior risultato è stato ottenuto con il mix di  $HCl$  e  $HClO_4$ . La misura del  $Pb^{2+}$  in  $HCl$  e  $HClO_4$  ha permesso di ottenere LOD e LOQ uguali a 0,83 ppb e 2.8 ppb, rispettivamente. Il sensore è stato quindi utilizzato per la misura di  $Pb^{2+}$  nel latte con il metodo delle aggiunte standard.

*Ringraziamenti: Questo lavoro è stato finanziato dal progetto europeo “BIOCOP” e dal progetto “PRAL” Progetto Codice 2003/92*

# Multilayers containing Au nanoparticles as new materials for amperometric sensors

*F. Terzi, \* B. Zanfognini, \* C. Zanardi, \* L. Pigani, \* T. Ääritalo, † J. Lukkari, † R. Seeber\**

\*Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Via Campi 183, 41100 Modena (Italy)

†Department of Chemistry, University of Turku, 20014 University of Turku, Finland

Conducting polymers are widely employed as electrode coatings characterized by antifouling and electrocatalytic properties at the same time. A step forward toward further increase of the electrocatalytic performance consists in the preparation of composites including metal functionalities inside the polymeric matrix. In particular, inclusion of noble metal nanoparticles (NPs), whose catalytic properties are well known, so much so that they are widely exploited in a variety of applications, constitutes one of the most interesting possibilities. Different strategies can be adopted for the preparation of such composites. In particular, the layer-by-layer deposition technique [1] represents an effective method for assembling thin films on different substrates. The formation and the stability of the composite is ascribed to multiple electrostatic interactions between adjacent layers possessing opposite charge; the thickness of the multilayer can be controlled at nanometric resolution in the 1-100 nm range. Moreover, the multilayer fabrication can be easily automated, thanks to the experimental simplicity and to the high reproducibility of the method: similar systems have emerged as ideal candidates for a number of applications.

In this frame, composite materials based on a redox polymer, namely a polyviologen (PV) derivative (Figure 1), and on Au NPs encapsulated by Cl<sup>-</sup> ions have been deposited on Au electrodes. The PV derivative used in the present study was chosen in view of the easy formation of the PV<sup>2+</sup>/PV<sup>•+</sup> redox couple, responsible for conduction inside the coating and for redox mediation at the electrode/solution interface [2]. Au has been chosen as the core of the NPs since this metal, under the form of NPs, constitutes a material possessing particularly interesting (electro)catalytic properties. Cl<sup>-</sup> ions have been chosen since i) the relevant Au-NPs result water soluble, negatively charged and stable in aqueous solution for a relatively long time; ii) it constitutes a very labile encapsulating agent, permitting the metal core to interact with the external environment and, thus, with the chemical species in solution.

The composites formed on the electrode have been characterised by different microscopic, spectroscopic and electrochemical techniques. In view of the applications in amperometric sensors, the electrochemical behaviour with respect to different kinds of benchmark electroactive species, such as [Ru(NH<sub>3</sub>)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, has been tested by voltammetric techniques.

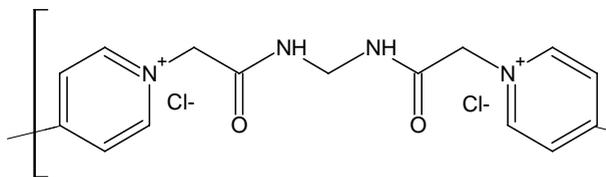


Figure 1

1. G. Decher *Science* **1997**, 277, 1232-1237.
2. P. M. S. Monk, *The Viologens: Physicochemical Properties, Synthesis and Applications of the Salts of 4,4'-Bipyridine*, John Wiley & Sons, 1998.

## Electrochemical Genosensor: Probe design and immobilization

R. Arra<sup>\*</sup>, F. Cugia<sup>†\*</sup>, L. Palchetti<sup>\*</sup>, G. Marrazza<sup>\*</sup>, M. Mascini<sup>\*#</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Firenze,

Via della Lastruccia 3, 50019 Sesto Fiorentino, Italia, e-mail: giovanna.marrazza@unifi.it

<sup>†</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Cagliari, Monserrato, Cagliari, Italia

<sup>#</sup>Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi (INBB), Viale delle Medaglie d'Oro 305, Roma, Italia

The specificity of the hybridisation reaction is essentially dependent on the biorecognition properties of the capture oligonucleotide; thus, design of the capture probe is undoubtedly the most important pre-analytical step. Most commonly, the probes are linear oligonucleotides [1], either synthesised in situ or pre-synthesised and afterwards immobilised onto the sensor surface. However, structured (hairpin) oligonucleotides are being used with increasing frequency [2]. Recently, probes, produced by chemical changes to the backbone of naturally-occurring DNA or RNA, are more and more used in Nucleic Acid (NA) sensing techniques. Among these locked nucleic acid (LNA) and peptide nucleic acid (PNA) are the most used. LNA is a bicyclic nucleic acid where a ribonucleoside is linked between the 2'-oxygen and the 4'-carbon atoms with a methylene unit. LNA can be used in any hybridization assay that requires high specificity and/or reproducibility. General properties of LNA oligonucleotides include highly stable base pairing with DNA and RNA [3], exceptionally high thermal stability, improved discrimination, compatibility with most enzymes and predictable melting behavior. Peptide nucleic acid (PNA) is a synthetic nucleic acid reported in early 1990s [4] that has achiral neutral polyamide backbone formed by repetitive units of N-(2-aminoethyl) glycine linked to N bases. PNA molecule that mimics DNA is advantageous as a probe molecule, owing to superior hybridization characteristics and improved chemical and enzymatic stability relative to nucleic acids. PNA molecule being resistive to the nucleases attack provides an extra edge over the use of conventional or naturally existing nucleic acids.

In this work we tested the analytical performances of DNA, LNA and PNA capture probes, using electrochemical genosensor formats, towards the hybridisation of synthetic DNA and RNA biotinylated oligos. The resulting biotinylated hybrids were coupled with a streptavidine-alkaline phosphatase conjugate and then exposed to the substrate ( $\alpha$ -naphthyl phosphate). The oxidation peak of the electroactive product ( $\alpha$ -naphthol) was detected by differential pulse voltammetry. Two immobilisation schemes were tested. In the first approach thiolated oligos were immobilised on gold electrode surface. In the second one streptavidin-modified magnetic beads were coated with biotinylated capture probe.

Analytical results on fully matched and on mismatched target oligos were discussed, along with the evaluation of sensitivity, reproducibility, and specificity towards RNA and DNA.

1. F. Lucarelli; S. Tombelli; M. Minunni; G. Marrazza, *Analitica Chimica Acta*, **2008**, 609, 139-159.
2. F. Ricci, R.Y. Lai, A.J. Heeger, K.W. Plaxco, J.J. Sumner, *Langmuir* **23** **2007**, 6827.
3. H. Kaur, A. Arora, J. Wengel, S. Maiti, *Biochemistry* **2006**, 45, 7347-7355.
4. K. E. Nelson, M. Levy, S. L. Miller *PNAS*, **2000**, 3868-3871

## Tecniche voltammetriche per lo studio della speciazione di metalli nelle acque naturali: limiti e vantaggi.

*G. Capodaglio*<sup>1,2</sup>, *E. Morabito*<sup>1</sup>, *F. Corami*<sup>2</sup>, *P. Cescon*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Ambientali, Università Ca' Foscari, Venezia

<sup>2</sup>Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali-CNR, Venezia

Valutare gli effetti ambientali di metalli pesanti nelle acque naturali richiede una adeguata conoscenza della loro forma chimica ed in particolare della quantità presente in forma biodisponibile [1,2]. La possibilità di studiare l'interazione dei metalli con i sistemi biologici richiede lo disponibilità di metodologie analitiche in grado di determinare selettivamente le forme chimiche o a differenziare frazioni dei metalli in matrici ambientali. Una parte importante dei metalli nelle acque risulta essere legata a materiale organico, spesso costituito da miscele complesse di composti organici macromolecolari, sotto forma di complessi che ne influenzano la capacità di interagire con altre componenti acquatiche, in particolare con gli organismi [3]. Le tecniche elettroanalitiche sono spesso utilizzate per differenziare la forma chimica assunta da elementi metallici nelle acque sfruttando come discriminatore un diverso comportamento elettrochimico. Nelle tecniche voltammetriche di ridissoluzione si differenziano l'insieme delle forme elettroattive da quelle non elettroattive, pertanto essendo le forme assunte dai metalli una miscela complessa la determinazione delle forme elettroattive non può essere considerata uno studio della speciazione in senso classico, determinazione di singoli composti (specie), bensì un frazionamento sulla base delle proprietà dei composti che costituiscono la miscela.

La miscela delle forme chimiche determinabili mediante tecniche di Voltammetria di Ridissoluzione Anodica è costituita sia da specie che risultano labili dal punto di vista termodinamico che da complessi che risultano cineticamente labili (si dissociano nello strato di diffusione durante la fase di preconcentrazione elettrolitica) [4]. Verranno discusse le caratteristiche della voltammetria di ridissoluzione anodica in relazione alla finestra di rilevamento rispetto ad altre tecniche voltammetriche di ridissoluzione e l'effetto della dissociazione cinetica dei complessi sui risultati della capacità complessate; è stato inoltre applicato un modello per stimare la costante di formazione condizionale media e la costante cinetica di dissociazione dei complessi cineticamente labili. Il metodo è stato applicato per studiare il complessamento di cadmio e zinco in campioni di acqua di mare costiero. I risultati hanno portato a stimare una capacità complessate del cadmio di  $2.4 \pm 0.3$  nmol/L con una costante di formazione condizionale  $K' = 2.2 \pm 0.1$  (nmol/L)<sup>-1</sup> ed una costante cinetica di dissociazione di  $k_d = 6.8 \pm 2.9$  s<sup>-1</sup>, La capacità complessate dello zinco è di  $31 \pm 3$  nmol/L e la costante di stabilità condizionale è di  $2.7 \pm 0.1$  (nmol/L)<sup>-1</sup> mentre la costante cinetica di dissociazione dei complessi è di  $k_d = 0.62 \pm 0.26$  s<sup>-1</sup>.

1. D. M. Di Toro, H. E. Allen, H. L. Bergman, J. S. Meyer, P. R. Paquin, R. C. Santore, *Environ.Toxicol.Chem.*, **2001**, 20, 2383-2396.
2. M. Chen, R. C. H. Dei, W. X. Wang, L. Guo, *Marine Chemistry*, **2003**, 81, 177-189.
3. S. A. Skrabal, K. L. Lieseke, R. J. Kieber, *Marine Chemistry*, **2006**, 100, 108-123.
4. J. Buffle, *Complexation Reactions in Aquatic Systems*, Ellis-Horwood, Chichester, 1988.

# Studio spettroelettrochimico dei poliossometallati tipo Keggin in soluzioni H<sub>2</sub>O-diossano

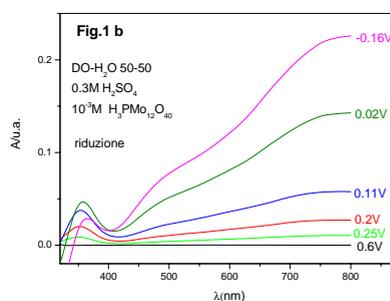
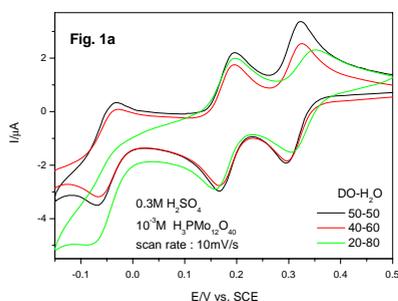
*S. Dsoke<sup>a</sup>, P. Mignini<sup>a</sup>, A. Kolary-Zurowska<sup>a</sup>, A. Zurowski<sup>a</sup>, P.J. Kulesza<sup>b</sup>, R. Marassi<sup>a</sup>*

<sup>a</sup>Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di camerino, 62032 Camerino

<sup>b</sup>Chemistry Department, University of Warsaw, Poland

Negli ultimi decenni i poliossometallati tipo Keggin, di formula generale H<sub>n</sub>XM<sub>12</sub>O<sub>40</sub> (X = P, Si, M = W, Mo), hanno ricevuto una notevole attenzione in campo industriale poiché questi sono capaci di catalizzare molti tipi di reazioni, hanno inoltre la caratteristica di essere dei superacidi, di adsorbirsi spontaneamente sui substrati elettrodi, di avere un'ottima attività elettrochimica e una buona stabilità termica. Recentemente è stato provato che questi composti sono capaci di attivare il Pt verso le reazioni di riduzione dell'ossigeno e di ossidazione dell'idrogeno trovando quindi un'importante applicazione anche nelle celle a combustibile<sup>1</sup>.

Questo lavoro riguarda lo studio e la caratterizzazione spettroelettrochimica dei quattro poliossometallati H<sub>n</sub>XM<sub>12</sub>O<sub>40</sub>, in soluzioni miste diossano-H<sub>2</sub>O. Come tecnica elettrochimica è stata utilizzata la voltammetria ciclica e come tecnica spettroscopica l'UV-vis. In Fig. 1a sono riportate le voltammetrie cicliche del H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> su un elettrodo di Au in soluzioni di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.3M contenenti diverse proporzioni di DO-H<sub>2</sub>O, come si può osservare il composto subisce tre reazioni di due elettroni ciascuna, e mentre in soluzione 50% H<sub>2</sub>O-diossano tutti e tre i processi sono reversibili, aumentando progressivamente il contenuto di acqua il terzo processo di riduzione diventa irreversibile, probabilmente a causa della formazione di un composto intermedio [P-Mo]<sup>2</sup>. Per lo studio spettroelettrochimico è stato utilizzato un elettrodo OTTLE a griglia d'oro realizzando la scansione di potenziale a 2mV/s. In Fig. 1b sono riportati gli spettri ottenuti in soluzione 0.3M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50% DO-H<sub>2</sub>O a diversi potenziali durante la riduzione. La formazione successiva delle specie ridotte viene messa in evidenza dalla crescita di due bande principali a 330nm e a 780nm. Dall'analisi spettroscopica si può osservare che mentre i primi due prodotti di riduzione sono reversibili e stabili, il terzo non è stabile neanche in soluzione 50% diossano-H<sub>2</sub>O come invece si deduceva dagli studi elettrochimici iniziali.



1. R. Włodarczyk, A. Kolary-Zurowska, R. Marassi, M. Chojak, P.J. Kulesza, *Electrochim. Acta* 52 (2007) 3958–3964
2. N. Tanaka, K. Unoura, E. Itabashi, *Inorg. Chem.* 21 (1982) 1662–1666.

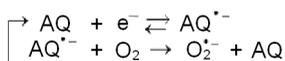
## Riduzione elettrocatalizzata dell'O<sub>2</sub> in liquido ionico

*R. Toniolo, A. Pizzariello, S. Susmel, N. Dossi, G. Bontempelli*

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Udine,  
via Cottonificio 108, 33100 Udine

La riduzione dell'ossigeno è un processo elettrochimico coinvolto in numerosi settori tecnologici quali la conversione e lo stoccaggio di energia, le elettrolisi industriali e la realizzazione di dispositivi dedicati al suo monitoraggio [1].

La sua riduzione diretta è stata oggetto di numerose indagini, sia in solventi protici che aprotici, dalle quali è risultato essere un processo caratterizzato sia da elevate sovratensioni che da cinetiche piuttosto lente. Conseguentemente, molte indagini sono state condotte allo scopo di individuare specie chimiche in grado di mediare tale riduzione e tra i principali elettrocatalizzatori sono state individuate alcune metallo-ftalocianine e metallo-porfirine, ossidi di metalli di transizione, metalli preziosi nanodispersi e alcuni derivati chinonici [2]. Sulla scorta di queste informazioni, è stata effettuata un'indagine voltammetrica su alcuni derivati 1,4-naftochinonici e 9,10-antrachinonici disciolti in liquidi ionici idrofobici (ILs) con lo scopo di chiarire se anche in ILs questi composti sono in grado di promuovere la riduzione dell'ossigeno. La motivazione di questa verifica va ricercata nella circostanza che gli ILs si rivelano particolarmente adatti all'assemblaggio di sonde elettrochimiche miniaturizzate che sono in grado di trarre vantaggio dalla loro capacità di esercitare anche una azione di preconcentrazione [3]. I risultati hanno evidenziato che in BMIM-NTF<sub>2</sub> e in BMPyr-NTF<sub>2</sub>, il sistema 9,10-antrachinonico (AQ), introdotto in tali mezzi sotto forma di derivato solfonico, partner anionico della coppia ionica costituente un liquido ionico a base fosfonica (PR<sub>4</sub>-AQSO<sub>3</sub>), è in grado di promuovere la riduzione dell'ossigeno attraverso il seguente meccanismo EC :



Tale processo è stato quindi sfruttato per realizzare una sonda elettrochimica, basata sull'impiego degli ILs che consente di monitorare l'ossigeno in fase gassosa anche in condizioni di temperatura e pressione diverse da quella ambiente. Le prestazioni fornite da tale sonda, impiegata come sensore amperometrico sono riportate nella seguente Tabella:

Approccio amperometrico	Tempo di risposta (s)	Sensibilità $\mu\text{A}/\% \text{O}_2 \text{v/v}$	DL		Intervallo di linearità ( $\% \text{O}_2 \text{v/v}$ )
			$\% \text{O}_2 \text{v/v}$	ppm v/v	
Statico	35-45	0.0260±0.0008	0.120±0.080	1200±800	0.120-100
Flusso	6-8	0.066±0.002	0.020±0.001	200±132	0.020-100

I risultati ottenuti evidenziano che il sensore sviluppato può essere utilmente impiegato nel settore alimentare per determinare l'ossigeno sia nelle procedure di confezionamento in atmosfere modificate che nel controllo in flusso delle medesime .

1. El-Deab M. S., Ohsaka T., *Electrochim. Acta*, **2007**, 52, 2166-2174
2. Suljukic B., Banks C. E., Compton R. G., *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2004**, 6, 4034 - 4041
3. Toniolo R., Pizzariello A., Susmel S., Dossi N., Doherty A. P., Bontempelli G., *Electroanal.* **2007**, 19, 2141 – 2148

## **Impiego di microelettrodi di platino mesoporoso in problematiche analitiche**

*D. Battistel, S. Daniele, C. Bragato, M. A. Baldo*

Dipartimento di Chimica Fisica, Università di Venezia, Calle Larga S. Marta 2137, I-30123 Venezia, [okarina@libero.it](mailto:okarina@libero.it)

Elettrodi nanostrutturati sono da alcuni anni oggetto di intensi studi grazie alle loro potenziali applicazioni in molti settori dell'elettrochimica e sono essenziali nei processi di elettrocatalisi. In questo ambito la morfologia dei materiali elettrodi è un fattore cruciale, in quanto l'aumento della superficie dell'elettrodo, a parità di volume di materiale, comporta una maggiore capacità reattiva. Elettrodi nanostrutturati possono essere preparati mediante elettrodeposizione di ioni metallici dissolti nel dominio acquoso di liquidi liotropici. Questi sistemi, a loro volta, possono essere preparati impiegando soluzioni micellari ad elevata concentrazione. Il liquido cristallino che si ottiene funge da "stampo" e la struttura del deposito è simile a quella della soluzione di partenza. Si possono così preparare superfici elettrodiche modificate con materiale nanostrutturato avente periodicità strutturale ben definita con pori cilindrici di dimensioni di pochi nm, che in accordo alla IUPAC sono definiti mesopori.

In questa comunicazione vengono presentati i risultati relativi all'impiego di microelettrodi di platino mesoporoso, con struttura esagonale (definita H1), preparati da liquidi cristallini di tipo liotropico. Tali liquidi vengono preparati utilizzando tensioattivi non ionici del tipo glicopolietilenico (Brij 78®), acido esacloroplatinico e acqua. Il platino mesoporoso viene ottenuto mediante elettrodeposizione a potenziale costante su microelettrodi a disco di platino. I microelettrodi così preparati pur avendo una superficie globale di uno o più ordini di grandezza maggiore rispetto al microdisco di partenza, conservano le caratteristiche e le proprietà diffusionali dei microelettrodi di partenza. Per aumentare ulteriormente le proprietà catalitiche del platino mesoporoso, i microelettrodi vengono anche modificati con monostrati o sub monostrati di bismuto sfruttando il fenomeno di under potential deposition (UPD).

Le prestazioni di tali sistemi elettrodici in ambito analitico vengono verificate sia nella determinazione di specie inorganiche (mediate stripping) e molecole organiche d'interesse alimentare e/o biologico.

## Studio spettroelettrochimico delle basi del DNA in ambiente apolare

*T. Caruso,\* A. Capobianco,\* A. Peluso,\* R. Viscardi†*

\*Università degli Studi di Salerno, Via Ponte Don Melillo, I-84084 Fisciano (Salerno)  
tcaruso@unisa.it, acapobianco@unisa.it, apeluso@unisa.it

†Acta SpA, Via di Lavoria, 56, I-56040 Crespina (Pisa), rviscardi@unisa.it

Sono state esaminate le proprietà elettrochimiche e spettroscopiche di derivati apolari di guanina, citosina, adenina e timina e dei loro complessi Watson-Crick.<sup>1</sup> I composti sono stati resi solubili in cloroformio mediante silylazione dei gruppi ossidrilici dei relativi nucleosidi. In tal modo, è stato possibile studiare il loro comportamento in un intorno apolare chimicamente analogo a quello proprio della parte centrale del DNA.

Per questi nuovi derivati, sono state dapprima confermate via NMR le costanti di autoassociazione e la stechiometria dei complessi guanosina-citidina e adenosina-timidina. Sono stati poi determinati voltammetricamente i potenziali di ossidazione, sia dei derivati purinici che dei loro complessi.<sup>2</sup> È stato sperimentalmente accertato che la formazione dei complessi Watson-Crick comporta un abbassamento del potenziale di ossidazione delle basi puriniche per effetto dell'interazione con le relative basi complementari.<sup>3</sup>

La costruzione di una particolare cella OTTLE ha quindi consentito di registrare gli spettri delle forme ossidate delle basi puriniche e dei relativi complessi, ossidati *in situ* a potenziale controllato. Sono state esplorate sia la regione del visibile che quella del medio e lontano IR. Il complesso GC mostra una banda a trasferimento di carica a circa 10000 cm<sup>-1</sup>. Questa rappresenta un importante segnale spettroscopico per il monitoraggio diretto dei danni di natura ossidativa a carico del DNA.

Tutte le evidenze sperimentali sono state supportate da calcoli teorici.

1. Watson, J. D.; Crick, F. H. *Nature*, **1953**, *171*, 964.
2. Caruso, T.; Carotenuto, M.; Vasca, E.; Peluso, A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 15040-15041.
3. Caruso, T.; Capobianco, A.; Peluso, A.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 15347-15353.

# Studio del bioaccumulo di Cd nel fegato del teleosteo antartico *Trematomus bernacchii* mediante voltammetria di ridissoluzione anodica

*S. Illuminati, C. Truzzi, A. Annibaldi, E. Bassotti, G. Scarponi*

Dipartimento di Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche,  
via Brecce Bianche, 60131 Ancona

Il cadmio, considerato come contaminante prioritario in numerose normative ambientali<sup>1</sup>, tende ad accumularsi nei tessuti durante la crescita degli organismi marini (bioaccumulo). Al fine di neutralizzare o ridurre gli effetti tossici dei metalli, molti organismi hanno sviluppato diversi meccanismi di difesa. In questi processi un ruolo fondamentale è svolto dalle metallotioneine (MT), piccole proteine intracellulari che legano i metalli, impedendo loro di interagire con altre proteine fondamentali per il funzionamento della cellula (es. enzimi)<sup>2</sup>.

In questo lavoro è stato studiato l'accumulo del Cd nel fegato del teleosteo antartico *Trematomus bernacchii*, esposto per 7 giorni a acqua di mare contaminata da tale metallo.

Durante la XXI Spedizione Italiana in Antartide (estate australe 2005-2006) sono stati pescati 20 esemplari di *Trematomus bernacchii*, in prossimità della Stazione italiana "Mario Zucchelli" a Baia Terra Nova (Mare di Ross). Dopo un periodo di acclimatazione di 2-3 giorni a una temperatura di  $-1 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ , 10 individui sono stati esposti a una concentrazione di Cd di 2.0 mg/l aggiunta all'acqua di mare antartica, mentre i rimanenti 10 esemplari non sono stati esposti al Cd (controlli). Nel corso dell'esperimento, gli organismi sono stati prelevati dopo 0, 1, 3, 5 e 7 giorni dall'inizio dell'esperimento (2 organismi esposti e 2 controlli ad ogni prelievo). Di ogni organismo sono stati prelevati campioni di vari organi e tessuti (fegato, branchie, intestino, muscolo e gonadi) e una parte (3 sub-campioni) dei tessuti/organi è stata congelata a  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  per la determinazione del Cd, mediante voltammetria di ridissoluzione anodica con modalità differenziale ad impulsi (DPASV), mentre una seconda parte è stata congelata a  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  per la determinazione delle Metallotioneine.

I risultati ottenuti mostrano che, mentre nei controlli la concentrazione di Cd nel fegato rimane praticamente costante ( $8.7 \pm 0.9 \text{ } \mu\text{g/g}$ , p.s.), negli organismi esposti, questa aumenta quasi linearmente raggiungendo in una settimana valori che sono ~3 volte maggiori rispetto ai controlli. Questi dati sono in generale accordo con quelli riportati in letteratura per organismi diversi e in ambienti diversi<sup>3,4</sup>, i quali, tuttavia, mostrano anche che un ulteriore, e più consistente, aumento di concentrazione si osserva per tempi più lunghi (decine di giorni o mesi).

1. European Union (2004) Council Directive 2004/107/EC of 15 Dec. 2004. Off. J. Eur. Commun. L23: 3-16.
2. Sadiq M., "Cadmium in marine environment", In: *Toxic Metal Chemistry in Marine Environments*, (M. Dekker, Inc.) Dekker, New York (1992) 107-153.
3. De Conto Cinier C., Peti-Ramel M., Faure R., Garin D., *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, **38** (1997) 137-143.
4. Kraemer L. D., Campbell P. G. C., Hare L., *Environ. Pollut.*, **138** (2005) 324-337.

## **Comunicazioni Poster**



## Applicazioni analitiche del parametro Auger

*A. Rigoldi, M. Fantauzzi, B. Elsener, D. Atzei, A. Rossi*

Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica, Università di Cagliari 09042, Monserrato (Ca)

Negli studi di analisi di superficie il *parametro Auger*,  $\alpha$ , è stato proposto per la determinazione in modo univoco dello stato chimico delle specie chimiche presenti [1-2]. In pratica si usa il *parametro Auger modificato* che è definito come  $\alpha' = KE_{\text{Auger}} + BE_{\text{fotoelettronico}}$ . Esso è calcolabile come somma dell'energia cinetica del segnale Auger e dell'energia di legame del segnale fotoelettronico. Il valore di  $\alpha'$  non è influenzato da correzioni dovute al caricamento del campione e fornisce una preziosa informazione sullo stato chimico dell'elemento che fotoemette. Misure di variazione di parametro Auger per lo stesso elemento in composti differenti tengono conto sia di differenze nello stato iniziale prima della fotoemissione (numero di ossidazione) sia di differenze nello stato finale (energia di rilassamento), perciò delle interazioni elettroniche con gli atomi vicini. Recentemente, utilizzando questo parametro, sono stati interpretati i risultati degli studi effettuati sulla superficie dell'enargite, un solfuro di rame e arsenico di formula  $\text{Cu}_3\text{AsS}_4$ . La presenza dell'arsenico nell'enargite, oltre ad avere implicazioni negative sui processi industriali, costituisce un problema ambientale specie nei drenaggi acidi di miniera nei quali si trova in seguito alla solubilizzazione dei minerali che lo contengono. Poiché, le condizioni di rilascio dipendono principalmente dalla stabilità e reattività superficiale della fase solida, le indagini condotte hanno avuto come oggetto: la determinazione dello stato chimico degli elementi costituenti l'enargite [3] e l'analisi delle modificazioni della superficie dopo esposizione a soluzioni che simulano gli ambienti acidi di miniera [4]. Il valore di  $\alpha'$  calcolato per campioni di enargite, sintetica e naturale, analizzata nello stato tal quale e subito dopo fratturazione, è lo stesso per arsenico e rame mentre cambia nel caso dello zolfo. Questo risultato è stato interpretato considerando gli atomi di zolfo presenti sulla superficie dell'enargite naturale appena fratturata più suscettibili degli altri due elementi a variazioni di composizione dello strato superficiale [3]. La presenza della seconda componente del segnale fotoelettronico è presente anche nei campioni di enargite sottoposti a dissoluzione in soluzione acida di ferro (III). Purtroppo, il secondo segnale non è chiaramente rivelabile nel segnale Auger, forse a causa del fatto che i segnali provengono da profondità del campione diverse: la prima più superficiale rispetto alla seconda. La seconda componente è stata tentativamente assegnata sulla base del parametro Auger, assegnata ad atomi di zolfo che si trovano in uno strato impoverito di rame formatosi dopo dissoluzione e situato sulla superficie più esterna dell'enargite [4]. Altri autori propongono invece la presenza di zolfo elementare o di polisolfuri. In questo lavoro saranno presentati gli spettri XPS e XAES di una serie di campioni contenenti rapporti diversi di S e suoi composti in diversi ambienti chimici. I valori di  $\alpha'$  saranno discussi in riferimento ai modelli sulla modificazione superficiale dell'enargite.

1. C.D. Wagner e A. Joshi, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* 1991; **47**: 283
2. G. Moretti, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* 1998; **95**:95
3. M. Fantauzzi, D. Atzei, B. Elsener, P. Lattanzi and A. Rossi *Surf. Interface Anal.* 2006; **38**: 922-930
4. M. Fantauzzi, B. Elsener, D. Atzei, P. Lattanzi and A. Rossi *Surf. Interface Anal.* 2007; **39**: 908-915

# Spectroscopic characterization of thin layers of lipoprotein self-assembled films on gold electrodes and devices<sup>[1]</sup>

A. Tache\*, S. Cotrone†, S. C. Litescu\*, N. Cioffi†, N. Ditaranto†,  
L. Torsi†, G.-L. Radu\*, L. Sabbatini†

\* Dept. of Anal. Biochem., Natnl. Institute for Biological Sciences, 296 Splaiul Independentei, P.O.Box 17-16, 77748, Bucharest, Romania

† Dip. Chimica, Università degli Studi di Bari, v. Orabona 4, Campus Univ., 70126 Bari-Italy; [cioffi@chimica.uniba.it](mailto:cioffi@chimica.uniba.it)

Low density lipoproteins (LDL) are rising a great deal of interest due to important Biochemical and Bioanalytical aspects, that have been shown in several review papers (see for instance references [2,3]. In the present study, LDL layers were deposited on different gold substrates, such as bulk electrodes, micro-patterned devices in order to obtain a bio-mimetic system. LDL layers were formed by chemical adsorption on the aforementioned gold-containing substrates through proper interaction with thiol groups. Controlled oxidation experiments were carried out, as well, in order to study the oxidative degradation processes of the different LDL layers. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) was used to analyze the surface of the samples and was operated both in conventional and Angle-Resolved (AR) modes. In case of pristine samples, the former mode was used to quantify the elemental composition and the abundance of the chemical functionalities in an outer layer (approximately 5 nm thick) of the surface, while AR analyses aimed at rationalizing the orientation of the LDL functional groups. Both XPS analysis modes were also applied to the characterization of oxidized LDL layers. In case of pristine samples, the C1s high resolution region could be curve-fitted by using four components, corresponding to the following functionalities: aliphatic (Binding Energy, BE= 284.8 ±0.1eV); alcoholic and/or aminic, and/or amidic (BE=286.2±0.2eV); carbonyl and/or amidic (BE=287.5±0.3eV); carboxyl and/or ester groups (BE=289.0±0.3eV). O1s and N1s XP spectra resulted to be composed by two peaks, although their attribution is ambiguous, due to the overlapping of several chemical environments. The preliminary results obtained in the present study represent the basis for further characterizations aiming to clarify the degree of LDL structural transformations, also taking into consideration the possible LDL surface charging playing an important role in their interaction with drug and other active principles [4]. In particular, attention will be paid to those changes induced by oxidative damages, or in case of use of LDL-based materials as active layers in sensing devices. *This work was financially supported by project IDEI, contract no 241/2007*

1. Knopp, R. H.; Paramsothy, P.; Atkinson, B.; Dowdy, A. *Am. J. Cardiology* **2008**, *101*, 48B-57B.
2. Jaeger, S.; Pietrzik, C.U. *Curr. Alzheimer Res.* **2008**, *5*, 15-25.
3. Spiteller, G., *Chemistry and Physics of Lipids* **1998**, *95*, 105-162.

TS\_P3

## Utilizzo di fasi stazionarie HPLC parzialmente porose in cromatografia “comprehensive” (LCxLC)

*F. Cacciola\**, *P. Donato\**, *P. Dugo<sup>†</sup>*, *G. Dugo\**, *L. Mondello\**

\*Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata s.n. 98168, Messina, Italia

<sup>†</sup>Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell’Ambiente, Università di Messina, Salita Sperone s.n. 98166, Messina, Italia

Matrici complesse come i prodotti alimentari richiedono metodi analitici ad elevata risoluzione per poter ottenere la caratterizzazione di tutti i componenti del campione difficilmente ottenibile con le tecniche convenzionali monodimensionali. Recentemente, lo sviluppo di tecniche multidimensionali in particolare nella modalità “comprehensive” ha permesso di analizzare tutto il campione nelle varie dimensioni, con enormi guadagni in termini di risoluzione. Riguardo quest’ultima tecnica, la necessità di avere analisi veloci ma allo stesso tempo efficienti nella seconda dimensione, ha spostato l’interesse degli analisti, nella ricerca di colonne basate su tecnologie HPLC sempre più avanzate e culminate con l’introduzione sul mercato di colonne HPLC parzialmente porose basate sulla tecnologia Fused-Core™.

Il particolato Fused-Core™, è composto da particelle con diametro totale di 2,7 µm, formate da un nucleo solido di silice del diametro di 1,7 µm rivestito da una strato poroso di gel di silice di spessore di 0,5 µm. Il nucleo solido impedisce agli analiti di diffondersi in profondità nella particella, permettendo di raggiungere livelli di efficienza superiori a quelli di particelle totalmente porose dello stesso diametro [1]. Inoltre, tali colonne offrono vantaggi rispetto alle colonne impaccate con particelle porose di diametro inferiore a 2 µm, producendo la metà della contropressione, permettendo di utilizzare colonne più lunghe (maggiore risoluzione) o flussi più alti (maggiore velocità) senza superare i limiti di contropressione raggiungibili da un sistema HPLC convenzionale [2].

In questo lavoro abbiamo investigato un sistema LCxLC usando una micro-colonna nella prima dimensione e una colonna C18 Fused-Core™ nella seconda dimensione per l’analisi di polifenoli in un campione di vino rosso. Le prestazioni offerte dalla colonna parzialmente porosa sono state confrontate con quelle di una colonna monolitica di dimensioni simili. I risultati ottenuti dimostrano la possibilità di usare colonne parzialmente porose nella seconda dimensione di un sistema multidimensionale “comprehensive” per ottenere analisi rapide in condizioni di gradiente ripetuto grazie ai brevi tempi di ricondizionamento [3].

*Ringraziamenti: Il Ministero dell’Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR “Sviluppo di metodologie innovative per l’analisi di prodotti agroalimentari”. Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

1. F. Gritti, A. Cavazzini, N. Marchetti, G. Guiochon, *J. Chromatogr. A*, **2007**, 1157, 289-303.
2. M. Herrero, F. Cacciola, D. Giuffrida, P. Donato, P. Dugo, L. Mondello, *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1188, 208-215.
3. A.P. Schellinger, D.R. Stoll, P.W. Carr, *J. Chromatogr. A*, **2005**, 1064, 143-156.

## **Cromatografia gassosa multidimensionale (GC x GC): ottimizzazione dei flussi in entrambi le dimensioni**

*P. Q. Tranchida\*, M. Mondello\*, P. Dugo†, G. Dugo\*, L. Mondello\**

\* Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italia

† Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Scienze MM.FF.NN., Università degli studi di Messina, Salita Sperone, 98166, Messina, Italia

La cromatografia gassosa bidimensionale “comprehensive” (GC x GC), introdotta all’inizio degli anni novanta<sup>1</sup>, è una tecnica analitica multidimensionale in grado di separare tutto il campione nelle due dimensioni. Il sistema è costituito da due colonne, interponendo tra loro un opportuno modulatore che regola il trasferimento delle frazioni tra le due dimensioni cromatografiche. La prima dimensione prevede l’utilizzo di una colonna capillare, con caratteristiche uguali a quelle utilizzate in approcci convenzionali (30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm d<sub>p</sub>); la seconda colonna, invece, è più corta e presenta un diametro interno ridotto (1-2 m x 0,1 mm d.i. x 0,1 µm d<sub>p</sub>), al fine di garantire una separazione molto più veloce (1-10 sec) rispetto alla prima dimensione (tipicamente 30-120 min). Nonostante siano state riportate in letteratura una serie di separazioni GC x GC senza precedenti, si può affermare che il potenziale della tecnica rimane in parte inespresso. Il motivo è connesso alla configurazione GC x GC tradizionale, che costringe l’analista ad utilizzare delle velocità lineari del gas troppo elevate nella seconda dimensione, comportando così una perdita notevole di risoluzione<sup>2</sup>.

In questo lavoro viene presentato un sistema GC x GC alternativo, che permette di abbassare il flusso del gas nella seconda dimensione, migliorando notevolmente la qualità della separazione cromatografica<sup>3</sup>. L’efficacia dell’approccio viene dimostrato mediante analisi GC x GC effettuate su un campione di kerosene e olio di fegato di merluzzo.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell’Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR “Sviluppo di metodologie innovative per l’analisi di prodotti agroalimentari”. Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

1. J.B. Phillips, J. Beens *J. Chromatogr. A* **1999**, 856, 331-347.
2. J.Beens, H-G. Janssen, M. Adahchour, U.A.Th. Brinkman *J. Chromatogr. A* **2005**, 1086, 141-150.
3. P. Q. Tranchida, A. Casilli, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello *Anal. Chem.* **2007**, 77, 2266-2275.

TS\_P5

## Separazione HPLC in modalità Rapid Resolution e caratterizzazione MS e MS/MS di derivati Zn ftalocianinici coniugati a oligopeptidi

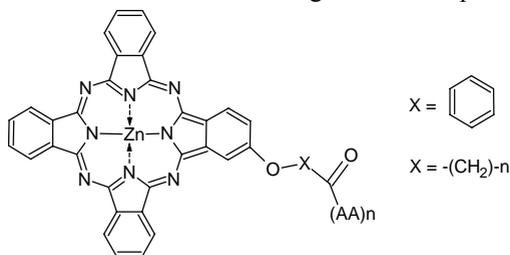
C. Gordano<sup>a</sup>, M. Municchi<sup>a</sup>, G. Chiti<sup>a</sup>, D. Nistri<sup>b</sup>, G. Roncucci<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Molteni Therapeutics

<sup>b</sup> Molteni Farmaceutici, S.S.67 – 50018, Scandicci (FI)

Indirizzo e-mail : c.gordano@moltenitherapeutics.it

L'interesse nell'utilizzo di derivati di tipo ftalocianinico in ambito biomedico è in costante crescita negli ultimi anni [1]. In particolare, l'aspetto più interessante delle ftalocianine risiede nella loro capacità di essere utilizzate come agenti fotosensibilizzanti nel campo della terapia fotodinamica (PDT) per il trattamento di varie patologie [2,3]. Alcune ftalocianine cationiche sono risultate essere particolarmente attive nell'inattivazione di microorganismi [4]. Molto interesse è stato rivolto verso derivati ftalocianinici coniugati a proteine [5], peptidi [6] e oligonucleotidi [7] con lo scopo di incrementare la loro efficacia biologica. È infatti noto che peptidi cationici hanno mostrato avere una forte attività nei confronti dei batteri Gram-positivi e Gram-negativi [8], probabilmente grazie alla loro capacità di disorganizzare la membrana cellulare. Questo lavoro si propone di caratterizzare Zn-ftalocianine coniugate con carriers di natura oligopeptidica utilizzando tecniche cromatografiche e di spettrometria di massa (ESI-MS e ESI-MS<sup>n</sup>).



Dal punto di vista cromatografico è stata utilizzata la tecnica della cromatografia liquida ad alta risoluzione (Rapid Resolution HPLC), che fa uso di fasi stazionarie con diametro delle particelle inferiori a 2 $\mu$ m, permettendo enormi miglioramenti in termini di efficienza e risoluzione.

- [1] Rosenthal, I. *Photochem. Photobiol.* **1990**, *51*, 497  
 [2] Malik, Z., Hanania, J., Nitzan, Y.J. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1990**, *5*, 281  
 [3] Bertoloni, G., Rossi, F., Valduga, G., Jori, G., Van Lier, J.E. *Microbios.* **1992**, *71*, 33  
 [4] Minnock, M., Vernon, D., Scoenfield, J.H., Brown, S.B.J. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **1996**, *32*, 153  
 [5] Hamblin, M.R., Miller, J.L., Ortel, B. *Photochem. Photobiol.*, **2000**, *72*, 533  
 [6] Sibrian-Vazquez, M., Jensen, T.J., Fronczek, F.R., Hammer, R.P., Vicente, M.G.H., *Bioconjugate Chem.*, **2005**, *16*, 852  
 [7] Mestre, B., Pitie, M., Loup, C., Claparols, C., Pratviel, G., Meunier, B., *Nucleic Acid Res.*, **1997**, *25*, 1022  
 [8] Shima, S., Matsuoka, H., Iwamoto, T., Sakai, H. *J. Antibiot.*, **1984**, *37*, 1149

# Disegno sperimentale frazionario e regressione lineare multivariata nella separazione di NSAIDs: ottimizzazione della risposta e derivazione di modelli predittivi

*G. Carlucci, A. Marrone, P. Iuliani*

Dipartimento di Scienze del Farmaco, Facoltà di Farmacia-Università degli Studi  
“G. D’Annunzio” di Chieti-Pescara, Via dei Vestini, 66100 Chieti

L’ottimizzazione di separazioni cromatografiche e la ricerca di modelli predittivi sono considerati generalmente come due obiettivi distinti sebbene possano essere entrambe affrontate con metodi chemiometrici molto simili.

In particolare, l’uso del disegno frazionario sperimentale (FED) è utile nel ridurre il numero di esperimenti necessari per l’ottimizzazione di un metodo HPLC [1], permettendo di determinare quale combinazione delle variabili cromatografiche (composizione della fase mobile, pH, ecc.) determini la migliore separazione degli analiti, cioè la migliore “risposta” nei termini desiderati (risoluzione, tempo di analisi, ecc.). Le equazioni-modello determinate mediante FED e successiva regressione multivariata (MLR) vengono poi usate come espressioni analitiche della risposta HPLC che può quindi essere facilmente ottimizzata. In realtà, queste equazioni, esprimendo la risposta HPLC in funzione di variabili sperimentali possono, in linea di principio, esprimere in una certa misura le relazioni struttura-ritenzione degli analiti in oggetto. Dovrebbe quindi essere possibile sfruttare i risultati dell’ottimizzazione dell’analisi HPLC per delineare delle relazioni quantitative struttura-proprietà (QSRR) e quindi di ricavare dei modelli predittivi.

In questo lavoro una procedura HPLC per l’analisi di sette antiinfiammatori non steroidei (NSAIDs) è stata ottimizzata in termini sia di risoluzione che tempo di analisi mediante un approccio combinato FED-MLR. Sebbene la separazione degli analiti esaminati non rappresenti un reale problema analitico, la scelta di tale set di molecole è stata guidata dalla loro similarità strutturale, ritenuta utile per confrontare correttamente i modelli sviluppati nel lavoro. La combinazione FED-MLR è stata usata con successo in molte applicazioni HPLC, dimostrandosi generalmente affidabile ed efficace [2,3]. Questo approccio, attraverso l’uso della funzione di risposta Y [2,3], che è stata originariamente disegnata per essere sensibile sia alla posizione sia alla forma di ciascun segnale cromatografico, ci ha consentito non solo di determinare i parametri che maggiormente influenzano la ritenzione dei NSAIDs considerati e di determinare le migliori condizioni operative per la separazione RP-HPLC, ma ha fornito anche una base per lo sviluppo di modelli predittivi.

[1] W. G. Lan, K. K. Chee, M. K. Wong, H. K. Lee, Y. M. Sin, *Analyst* **1995**, *120*, 281-287.

[2] E. Marengo, M.C. Gennaro, V. Gianotti, E. Prenesti, *J. Chromatogr. A* **1999**, *863*, 1-11.

[3] A. B. Baranda, O. Berasaluce, R. M. Jiménez, R. M. Alonso, *Chromatographia* **2005**, *61*, 447-453.

TS\_P7

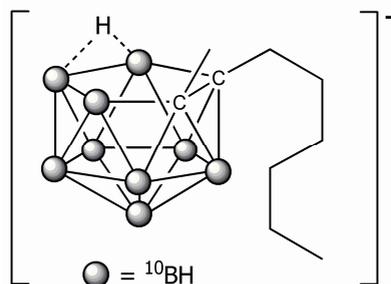
## Separazione cromatografica (LC) e caratterizzazione ESI-LTQ-FTMS di *nido*-caborani: rilascio facile di idrogeno molecolare

*T. R.I. Cataldi, G. Ricciardi, D. Pietrangeli, G. Bianco, S. Abate*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata,  
Via N. Sauro, 85 – 85100 Potenza (*tommaso.cataldi@unibas.it*)

I dicarba-*closo*-dodecaborani appartengono alla famiglia degli eteroborani, in quanto contengono atomi di carbonio incorporati in un borano poliedrico [1]. Quello che merita maggiore attenzione fra questi, grazie al suo ampio utilizzo e alla facilità di sintesi, è il dicarba-*closo*-dodecaborano, comunemente chiamato carborano, avente formula bruta  $C_2H_{12}B_{10}$ . I carborani sono ampiamente utilizzati nel campo della catalisi e come radiofarmaci [2]. Per ottenere composti più solubili in acqua si ricorre alla conversione dei *closo*-carborani nei rispettivi *nido*-carborani per rimozione di un residuo BH e formazione di un monoanione. In particolare partendo dall'ortocarborano si ottiene il 7,8-*nido*-carborano.

In questa comunicazione saranno riportati i risultati preliminari ottenuti nella fase di caratterizzazione di un nuovo derivato  $^{10}B$ -carborano, cioè il monoanione [7-metil-8-esil-7,8-dicarba-*nido*-undecaborano] (vedi figura), mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa con ionizzazione electrospray e rivelazione con trappola ionica ciclotronica in trasformata di Fourier caratterizzata da altissima accuratezza e risoluzione (LC-ESI-FTICR-MS) [3]. Questo anione contenente l'isotopo del boro 10 dimostra uno ione molecolare a  $m/z$  224.32093 ( $[C_9^{10}B_9H_{26}]^- = [HM]^-$ ) insieme a cinque segnali di massa relativi agli ioni  $[HM-nH_2]^-$  ( $n = 1-5$ ), che sono indicativi della perdita ripetuta di molecole di idrogeno. L'analisi degli ioni prodotto ottenuti dai corrispondenti ioni parente  $[HM-nH_2]^-$  ( $n = 0-5$ ), per dissociazione indotta da collisione (CID) nella trappola ionica lineare (LTQ), ha permesso di confermare la rimozione, nella sorgente ESI, di idrogeno dallo ione molecolare. Mostrando come condizioni relativamente blande di pressione e temperatura siano sufficienti per il rilascio di idrogeno molecolare dal *nido*-carborano. Questo studio permette di annoverare i *nido*-carborani come potenziali composti solidi da impiegare per l'accumulo e il deposito di idrogeno [4].



1. S. Körbe, P.J. Schreiber, J. Michl, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 5208-5249
2. J.F. Valliant, K.J. Guenther, A.S. King, P. Morel, P. Schaffer, O.O. Sogbain, K.A. Stephenson, *Coord. Chem. Rev.*, **2002**, *232*, 172-230.
3. T.R.I. Cataldi, G. Ricciardi, D. Pietrangeli, G. Bianco, S. Abate, **2008** *inviato per pubblicazione*.
4. W.L. Mao, H-K. Mao, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 708-710.

# Valutazione dell'uso degli esteri metilici e degli esteri etilici degli acidi grassi come composti di riferimento per il calcolo degli indici di ritenzione lineari nella gascromatografia

*A. Salvatore* \*, *P. Dugo* †, *G. Dugo* \*, *L. Mondello* \*

\*Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italia

†Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell'Ambiente, Università di Messina, Salita Sperone, 98166 Messina, Italia.

Gli esteri metilici degli acidi grassi (FAME) rappresentano la forma di derivatizzazione più comune per l'analisi gascromatografica degli acidi grassi, sebbene non siano i più utili per scopi identificativi attraverso la spettrometria di massa per ionizzazione elettronica (EI MS) in quanto forniscono informazioni limitate riguardo alla struttura di tali molecole soprattutto per quanto riguarda il numero e la posizione degli stessi [1-3]. Informazioni di questo tipo si possono ricavare attraverso la derivatizzazione dei doppi legami o del gruppo carbossilico ma queste soluzioni presentano diversi svantaggi [4]. L'analisi degli spettri ottenuti per ionizzazione elettronica permette comunque di distinguere, in maniera più o meno semplice, tra acidi grassi saturi, monoenoici e dienoici in virtù della presenza nei relativi spettri di gruppi di ioni caratteristici per ciascuna di queste classi. Minori sono invece le differenze nel caso dei FAMES con tre o più doppi legami e di conseguenza può risultare meno attendibile l'identificazione. Nel caso di analisi GC/MS si tenta, in genere di risolvere i dubbi relativi all'identificazione dei composti analizzati incrociando l'informazione proveniente dallo spettro di massa con quella relativa alla ritenzione del composto sulla fase stazionaria utilizzata per la separazione. A tale scopo sono stati utilizzati diversi tipi di indici di ritenzione basati, in genere, sul principio che si definisce l'indice di ritenzione per una serie di composti di riferimento, di solito omologhi, quindi si stabilisce una relazione matematica tra i tempi di ritenzione e gli indici di ritenzione che viene applicata per calcolare l'indice di composti che non appartengono alla serie di riferimento. In questi casi gli indici di Kovats' [5], basati su una serie di *n*-alcani come riferimento, vengono utilizzati per scopi generali di identificazione mentre altre serie di riferimento sono state utilizzate per scopi specifici o per determinate classi di composti [6]. In questo lavoro è stata valutata l'efficacia dell'uso di serie omologhe di esteri metilici ed etilici (FAEE) a numeri pari di atomi di carbonio per l'identificazione di FAMES attraverso analisi GC/EI MS su una colonna 100% polietilenglicole.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR "Sviluppo di metodologie innovative per l'analisi di prodotti agroalimentari". Shimadzu e Sigma-Aldrich/supelco per il loro continuo supporto.*

1. R. T. Holman, J. J. Rahm *Prog. Chem. Fats Other Lipids*, **1966**, 9, 13–90.
2. W. Christie *Gas Chromatography and Lipids. The Oily Press, Ayr (Scotland)* **1989**, 161–184.
3. G. Dobson, W. W. Christie *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2002**, 104, 36–43
4. S.A. Mjøs *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2004**, 106, 550.
5. E. Kováts *Helv. Chim. Acta* **1958**, 41, 1915.
6. G. Castello *J. Chromatogr. A* **1999**, 842, 51.

## Liquidi Ionici a Temperatura Ambiente (RTILs) come Fase Stazionaria per la Separazione di Isomeri Cis/Trans di Esteri Metilici di Acidi Grassi Insaturi.

*C. Ragonese\**, *P. Q. Tranchida\**, *P. Dugo<sup>†</sup>*, *G. Dugo\**, *L. Mondello\**

\* Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italia

† Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Scienze MM.FF.NN., Università degli studi di Messina, Salita Sperone, 98166, Messina, Italia

I liquidi ionici a temperatura ambiente (RTILs), rappresentano una classe di solventi organici ionici non molecolari liquidi a temperatura ambiente<sup>1</sup>, generalmente composti da cationi contenenti azoto asimmetricamente sostituiti e controbilanciati da un catione inorganico. I liquidi ionici presentano caratteristiche chimiche e fisiche peculiari di notevole interesse in diversi ambiti di applicazione: possono essere idrofobi o idrofilo, posseggono pressione di vapore trascurabile a temperatura ambiente e sono in grado di solubilizzare una vasta gamma di composti sia inorganici che organici. Uno dei grandi vantaggi derivanti dalla loro struttura è che le proprietà chimiche e fisiche possono essere cambiate semplicemente alterando la natura del catione o dell'anione cosicché specifici RTILs possono esser sintetizzati in modo da essere più viscosi, possedere un range più vasto di stabilità termica o fornire specifiche interazioni con diversi soluti. RTILs specificamente sintetizzati<sup>2</sup> risultano particolarmente utili in GLC poiché posseggono le caratteristiche necessarie per una buona base stazionaria liquida: alta viscosità, alta stabilità termica, alta bagnabilità su colonne capillari di silice fusa e, come già accennato, pressione di vapore a temperatura ambiente molto bassa.

Il presente studio è basato sulla valutazione della separazione di isomeri cis/trans di esteri metilici di acidi grassi insaturi ottenuta per mezzo di una colonna capillare contenente il liquido ionico dicationico 1,9-di(3-vinil-imidazolio)nonano bis(trifluorometil)solfonilimidato come fase stazionaria paragonata a quella ottenuta sulle colonne capillari più utilizzate per questa stessa applicazione.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR "Sviluppo di metodologie innovative per l'analisi di prodotti agroalimentari". Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

1. T. Welton, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2071-2083
2. J. Anderson, D. Armstrong, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 4851-4858

# Analisi dei metaboliti della caffeina in campioni di urina mediante LC-ESI-FTICR-MS e spettrometria di massa tandem in trappola ionica lineare (LTQ)

*C. Labella, G. Bianco, S. Abate, T. R. I. Cataldi*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata,  
Via N. Sauro, 85 – 85100 Potenza (*tommaso.cataldi@unibas.it*)

I citocromi P450 (o CYP) sono enzimi microsomiali che catalizzano una serie di reazioni tra cui dealchilazione con formazione di un composto più idrofobo di quello di partenza e idrossilazione. Gli enzimi CYP si classificano in famiglie aventi almeno il 40% di omologia di sequenza, es. CYP1, CYP2, *etc.* e subfamiglie: es. CYP1A, CYP1B e isoforme: es. CYP1A1, CYP1A2, *etc.* Il corredo di isoforme è specie-specifico. L'uomo possiede l'isoforma CYP1A2 la quale è presente soprattutto nel fegato. La 1,3,7-trimetilxantina, meglio conosciuta come caffeina è un alcaloide contenuto nei chicchi di caffè. Essa viene assorbita per via orale dall'organismo con un picco plasmatico massimo dopo circa due ore. E' metabolizzata dall'isomorfa CYP1A2, dalla xantina ossidasi (XO) e dall'*N*-acetiltransferasi (NAT), subendo rispettivamente reazioni di demetilazione, idrossilazione e acetificazione con formazione di numerosi metaboliti [1]. E' interessante notare che l'attività di tali enzimi e l'effetto tossicologico di uno xenobiotico può essere stimata dai rapporti delle concentrazioni dei metaboliti stessi della caffeina presenti nell'urina [2]. I principali metaboliti della caffeina sono la paraxantina (1,7-dimetilxantina), la teofillina (1,3-dimetilxantina) e la teobromina (3,7-dimetilxantina), impiegati in ambito medico come vasodilatatori [3].

In questa comunicazione saranno riportati i risultati ottenuti nella fase di caratterizzazione dell'intero set di 15 metaboliti della caffeina in campioni di urina mediante cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa ad alta risoluzione con ionizzazione electrospray (ESI) in modalità positiva (LC-(+)-ESI-ICRFTMS). La separazione cromatografica è stata realizzata con una colonna a fase inversa eluita con 1% di THF in acqua e acetonitrile contenenti entrambi acido formico allo 0.1% per favorire il processo di ionizzazione. La semplicità del metodo consiste nel fatto che esso non prevede l'impiego di alcun pre-trattamento del campione; solo aggiunta degli standard interni e semplice filtrazione dell'urina prima dell'iniezione nel sistema cromatografico. La metodica è stata applicata con successo per l'identificazione di tutti i metaboliti della caffeina insieme ai derivati dell'acido urico e dell'uracile. Tutti i metaboliti sono stati esaminati e caratterizzati mediante spettrometria di massa tandem (ESI-MS/MS) nella trappola ionica lineare (LTQ) per studiare ed delucidare il percorso di frammentazione dei vari isomeri [3,4]. Questo studio fornisce un valido strumento per valutare in modo semplice e senza l'impiego di composti con isotopi marcati l'attività enzimatica del citocromo CYP1A2, dell'*N*-acetiltransferasi e della xantina ossidasi.

1. M. Caubet, B. Comte, J. Brazier *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, *34*, 397-389.
2. B.B. Rasmussen, K. Bøsen *Ther. Drug Monit.* **1996**, *18*, 254-262
3. E. Bendriss, N. Markoglou, I. W. Wainer *J. Chromatogr. B.* **2000**, *746*, 331-338.
4. Wimann, M. Sabroe, H. E. Poulsen *J. Mass Spectrom.* **2005**, *40*, 307-316.

# Interpretazione dei picchi isotopici A+2 dei glucosinolati in seguito a cromatografia liquida con ionizzazione ES e spettrometria di massa tandem

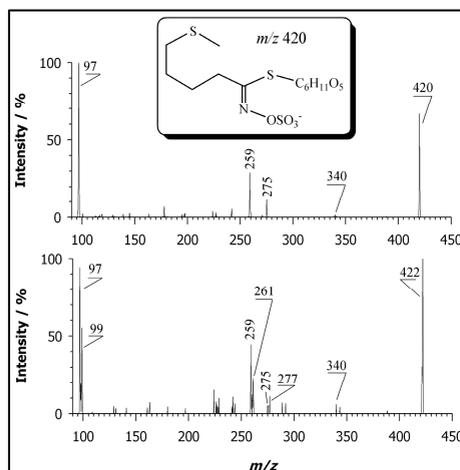
*D. Orlando,\* F. Lelario,\* A. Rubino,† S. A. Bufo,\* T. R. I. Cataldi†*

\*Dipartimento di Scienze dei Sistemi Colturali, Forestali e dell'Ambiente, Università degli Studi della Basilicata, Via dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza

†Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Via N. Sauro 85, 85100 Potenza (*tommaso.cataldi@unibas.it*)

I glucosinolati sono metaboliti secondari costituiti da un gruppo variabile R, un residuo  $\beta$ -D-tioglucopiranosico e un gruppo ionico (Z)-N-idrossimino-solfato, la cui formula generale è  $R-C_7H_{11}O_9NS_2^-$ . L'interesse verso queste sostanze è dovuto al ruolo che esse svolgono come agenti nella prevenzione del cancro e come pesticidi naturali. Il residuo R che differenzia i vari glucosinolati è un derivato aminoacidico della metionina, fenilalanina, tirosina o triptofano; circa 130 differenti glucosinolati sono stati finora riportati [1].

Nel nostro laboratorio è stata messa a punto una nuova metodica di analisi dei glucosinolati mediante LC-ESI in modalità negativa e spettrometria di massa con trappola ionica quadrupolare (QITMS) [2]. In questa comunicazione verrà riportata la caratterizzazione di una serie di glucosinolati mediante spettrometria di massa tandem con decomposizione indotta da collisione (CID) degli ioni  $[M-H]^-$  (A) e  $[M-H+2]^-$  (A+2). Quest'ultimo picco isotopico è sempre abbastanza pronunciato ( $>8\%$ ) per la presenza nei glucosinolati di almeno due atomi di zolfo, e quindi di  $^{34}S$ , al quale si associa il contributo dell'ossigeno ( $^{18}O$ ) e di due atomi di carbonio  $^{13}C$ . In Figura 1 è riportato un esempio di CID degli ioni a  $m/z$  420 e 422 della glucoerucina ( $C_{12}H_{22}NO_9S_3^-$ ). I rapporti teorici per i frammenti più tipici dei glucosinolati, in seguito a frammentazione dello ione molecolare A+2, i.e., a  $m/z$  97/99, 259/261 e 275/277, sono rispettivamente e approssimativamente pari a 2:1, 2:1 e 1:2. I risultati sperimentali, ottenuti in seguito a separazione cromatografica LC di un campione di semi di rucola e ionizzazione ES negativa con decomposizione indotta da collisione nella trappola ionica, sono abbastanza in linea con quanto previsto teoricamente.



**Figura 1.** Spettri MS/MS della glucoerucina ottenuti in trappola ionica ad un valore di energia collisionale relativa pari al 40%. CID eseguita sugli ioni molecolari A ( $m/z$  420) e A+2 ( $m/z$  422).

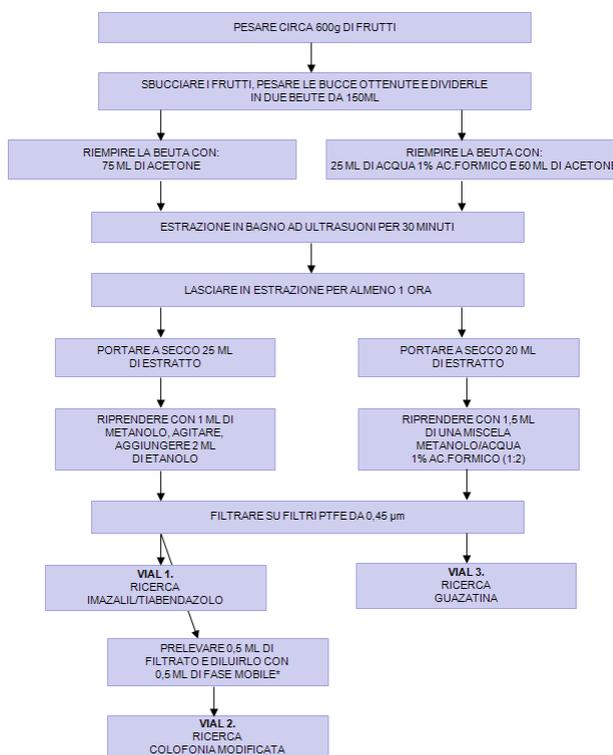
1. J.W. Fahey, A.T. Zalcman, P. Talalay *Phytochemistry* **2001**, 56, 5.
2. T.R.I. Cataldi, A. Rubino, F. Lelario, S.A. Bufo *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, 21, 2374.

# Protocollo analitico integrato LC/MS per la valutazione di trattamenti post-raccolta negli agrumi di importazione

M. Scordino, L. Sabatino, P. Pagano, M. Gargano, V. Pantò, G. L. Gambino, P. Traulo, G. Gagliano

Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali  
Ispettorato Centrale per il Controllo della Qualità dei Prodotti Agroalimentari  
Laboratorio di Catania, Via Varese 45, 95123 Catania

Nell'ottica del controllo qualità degli agrumi di importazione, è stato sviluppato un protocollo analitico integrato LC/MS per la determinazione simultanea di colofonia chimicamente modificata [1], guazatina [2], nonché imazalil e thiabendazolo. Questi ultimi sono due fitosanitari il cui uso come additivi nelle cere di ricoprimento degli agrumi è consentito, ma rigidamente regolamentato per quel che concerne i residui massimi riscontrabili sul prodotto al commercio. La colofonia chimicamente modificata è utilizzata come agente di rivestimento nella ceratura degli agrumi dei paesi extra-EU, ma vietata nei prodotti comunitari. La guazatina, infine, è un fungicida costituito da una miscela di prodotti di reazione di poliammine il cui utilizzo in EU è limitato alle sementi. L'applicazione del suddetto protocollo al controllo di agrumi di importazione ha consentito il ritiro dal commercio di parecchie tonnellate di prodotto non conforme alle normative vigenti [1-2].



\* 10 mM (770 mg/L) Acetato di ammonio acetone/acqua 80:20.

1. G. Gagliano, M. Gargano, P. Pagano, L. Sabatino, M. Scordino, P. Traulo. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, 226, 991-999.
2. M. Scordino, L. Sabatino, P. Traulo, G. Gagliano, M. Gargano, V. Pantò, G.L. Gambino. *Eur. Food Res. Technol.* **2008**, DOI 10.1007/s00217-008-0849-3.

# Determinazione cromatografica del resveratrolo ed alcuni composti flavonoidi tramite rivelazione spettrofotometrica previa estrazione liquido-liquido.

*M. Ritorti, I. G. Casella.*

Dipartimento di Chimica dell'Università degli Studi della Basilicata. Via N. Sauro, 85. 85100 Potenza. Italy

I composti polifenolici costituiscono una delle principali classi di metaboliti secondari presenti diffusamente nel mondo vegetale. E' ben noto l'effetto antiossidante, antitumorale e di fragranza di diversi prodotti alimentari di origine vegetale associato alla presenza di specifiche molecole polifenoliche nella loro matrice. In tal senso, di sicuro interesse, sia dal punto di vista nutrizionale che di prevenzione ad importanti patologie, si è dimostrato un particolare polifenolo non flavanoide quale il 3,5,4'-triidrossistilbene, comunemente detto *trans-resveratrolo*. Pertanto la determinazione del resveratrolo ed alcuni suoi omologhi, riveste una notevole importanza sia dal punto di vista strettamente nutrizionale che intrinsecamente qualitativo (i.e., gusto, fragranza, freschezza, grado di conservazione, etc.) delle matrici alimentari stesse. La possibilità di disporre di adeguate e robuste strategie di analisi per il controllo di tipo routinario su matrici alimentari (ed in particolare bevande alcoliche) ha sempre più assunto un peso importante sia nella definizione qualitativa dei prodotti alimentari, che nel controllo e gestione della loro filiera di produzione, trasformazione, conservazione e distribuzione degli stessi. Generalmente queste importanti classi di molecole, vengono separate dalle loro miscele di appartenenza, oltre che con tecniche elettroforetiche, anche tramite tecniche cromatografiche a fasi inverse ( $C_{18}$ ) [1, 2] e quindi rivelate con metodi di tipo spettrofotometrico (i.e., UV-Vis, fluorescenza) [1] oppure in alcuni casi, utilizzando rivelatori di tipo elettrochimico [3].

Nella presente comunicazione è stato studiato un percorso cromatografico teso al confronto tra le più tradizionali tecniche di separazione a fasi inverse ( $C_{18}$ ) e quelle a scambio cationico utilizzando una rivelazione a fluorescenza. Le separazioni cromatografiche sono state effettuate in ambiente acido operando con adeguati gradienti di fase acquosa/organica al fine di ottenere accettabili separazioni di miscele complesse in tempi di eluizione generalmente inferiori ai 30 min. La rivelazione in fluorescenza operante a selezionate lunghezze d'onda variabili  $E_{exc.} = 280 \text{ nm} - 291 \text{ nm}$  ed  $E_{em.} = 320 \text{ nm} - 406 \text{ nm}$  ha fornito interessanti risultati sia in termini di riproducibilità temporale che di limiti di rivelabilità (generalmente attestati a livelli nM). Particolare riguardo è stato dato alla messa a punto di una idonea procedura di estrazione liquido-liquido utilizzando solventi organici modulabili a diversi gradi di polarità, ottenendo incoraggianti gradi di recupero delle diverse molecole studiate, generalmente non inferiori al 95 %.

La metodologia analitica così definita è stata infine criticamente testata nell'analisi di resveratrolo ed alcuni altri importanti polifenoli in campioni di vini di origine lucana a diffusione nazionale.

1. M.E. Juan, R.M. Lamuela-Raventos, M.C. De La Torre- Boronat, J.M. Planas, *Anal. Chem.*, **1999**, 71, 747-751.
2. C. Dominguez, D.A. Guillen, C.G. Barroso, *J. Chromatogr. A*, **2001**, 918, 303-310.
3. Kolouchová-Hanzliková, K. Melzoch, V. Filip, J. Smidrkal, *Food Chem.*, **2004**, 87, 151-158.

## Monitoring of illicit drugs in biological fluids by HPLC-MS/MS

M. Sergi<sup>a</sup>, E. Bafile<sup>b</sup>, D. Compagnone<sup>a</sup>, R. Curini<sup>b,c</sup>, G. Fabrizi<sup>c</sup>, F.S. Romolo<sup>b,d</sup>

<sup>a</sup>University of Teramo, Dept of Food Science, Teramo, Italy.

<sup>b</sup>University of Rome “La Sapienza”, Dept of Chemistry, Rome, Italy.

<sup>c</sup>ISPEL, DIL-Lab. of Toxicological Chemistry, Rome, Italy

<sup>d</sup>Université de Lausanne, Institut de Police Scientifique, CH-1015 Lausanne, Switzerland

The aim of this work was to develop and validate a HPLC-MS/MS method for the determination of abuse drugs (opiates, amphetamines, hallucinogens, cocaine, cannabinoids, together with their main metabolites) in different biological matrix [1]. Sample preparation was extremely fast and easy to perform, requiring a simple dilution of the matrix with methanol, followed by centrifugation and filtration. Chromatographic separation was carried out in RP-HPLC using a 4,6mm x 250mm C18 column; acetonitrile and water, both added with formic acid 5mM, were used for the mobile phase. As regards mass spectrometric detection, different acquisition periods were created both in positive and negative ionization mode according to the chemical characteristics of the analytes, using an electrospray interface. The majority of the considered substances have basic characteristics, whereas carboxy-THC, the urinary metabolite of THC, only gives a response in ESI when working in negative mode. THC is detected in positive mode, albeit with slightly lower instrumental response levels with respect to the other drugs examined. The use of different acquisition periods proved to be fundamental, in terms of method performances, due to the number of analyzed substances: the sensitivity was strongly improved than a single period acquisition, but also the specificity, allowing the record of two MRM transitions for each analyte, as required by SOFT/AAFS (Society of Forensic Toxicologists/American Academy of Forensic Sciences) guidelines [2], maintaining an acceptable dwell time associated with each ion current. Moreover, it was possible the insertion of at least one deuterated SI for each period, that guarantees a good robustness to the whole analytical procedure. The method validation has been carried out following the above cited SOFT/AAFS guidelines and, therefore sensitivity (LODs and LOQs), linearity, carryover, precision, accuracy, specificity, recovery, stability, and matrix effect were tested in order to evaluate that the presented analytical procedure was suitable for its purpose [3].

Analyte	Internal Standard	Response Equation	r <sup>2</sup>	LOD	LOQ
				ng mL <sup>-1</sup>	
Morphine	Morphine-d3	y = 0.0357x + 0.0372	0.9993	0.9	1.1
6-MAM	Methamphetamine-d5	y = 0.021x + 0.00466	0.9996	0.8	3.0
Amphetamine	Methamphetamine-d5	y = 0.0319x - 0.00541	0.9990	0.6	1.0
Methamphetamine	Methamphetamine-d5	y = 0.0897x - 0.0712	0.9994	1.0	1.2
MDMA	MDMA-d5	y = 0.0198x - 0.00526	0.9992	0.9	1.8
MDA	MDMA-d5	y = 0.0148x + 0.00739	0.9996	2.8	5.0
MDE	MDMA-d5	y = 0.0219x + 0.0205	0.9995	0.7	1.0
Cocaine	Cocaine-d3	y = 0.0306x - 0.00857	0.9995	0.5	0.8
BEG	BEG-d3	y = 0.0476x - 0.0309	0.9988	0.4	0.6
Ketamine	Methamphetamine-d5	y = 0.0353x + 0.0157	0.9994	0.2	0.5
Phencyclidine	Cocaine-d3	y = 0.0309x - 0.0368	0.9985	1.1	1.3
THC	THC-d3	y = 0.0219x - 0.0159	0.9981	2.5	5.0
THC-COOH	THC-COOH-d3	y = 0.0380x + 0.163	0.9980	1.6	4.3

Precision and accuracy of the method were evaluated at three concentrations over the linear dynamic range; to evaluate matrix effect, the instrumental calibration curve (“calibration curve in solvent”) was compared with calibration curves obtained by blank extracts, spiked with the analytes (“calibration curve in matrix”). This method proved to be simple, fast, robust, and sensitive and fully accomplishes the requirements to be used as a confirmation method for different biological fluids in real samples [4]. This procedure was applied to the monitoring of volunteers and it will be tested on occupational field.

1. M.R Moeller, T. Kraemer *Ther. Drug Monit.* **2002** 24, 210-215
2. Society of Forensic Toxicologists Inc., American Academy of Forensic Science, *Forensic toxicology Laboratory Guidelines*. (2002) <http://www.soft-tox.docs/Guidelines.2002.final.pdf>
3. M.Concheiro, A. Castro, O. Quintela *J. Chromat. B* **2006**, 832, 81-89
4. B. Maralikova, W. Weinmann *J. Chromat. B* **2004**, 811, 21-30

# Nuovi coating elettrosintetizzati per microestrazione in fase solida con recettori molecolari funzionalizzati con 2,2'-bitiofene

F. Bianchi, M. Giannetto, M. Mattarozzi

Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università degli Studi di Parma, Viale Usberti 17/A, 43100 Parma, Italy

La microestrazione in fase solida (SPME)<sup>1</sup> costituisce una valida alternativa alle tecniche di estrazione tradizionali per il campionamento di composti volatili e semivolatili, grazie alla sua semplicità, facilità di automazione e limitato utilizzo di solventi. Sia l'estrazione che il desorbimento degli analiti coinvolgono direttamente il coating della fibra, le cui caratteristiche influenzano notevolmente le performance della tecnica SPME. Va tuttavia osservato come, nonostante la disponibilità commerciale di diversi coating a differente polarità e spessore, negli ultimi anni sia nato un forte interesse verso la preparazione di nuovi materiali caratterizzati da una sempre maggiore selettività ed efficienza di estrazione verso composti target.<sup>2</sup>

In questo studio è stato sviluppato un nuovo coating per fibre SPME, mediante elettropolimerizzazione di un recettore molecolare fenilureidico derivatizzato con 2,2'-bitiofene su un filo d'oro, utilizzato come supporto della fibra. L'efficienza del coating, realizzato per l'analisi di contaminanti ambientali ad elevata tossicità, quale il cloruro di vinile monomero (CVM), è stata preliminarmente verificata mediante elettrodeposizione del polimero su un quarzo EQCM con superficie elettrodica d'oro. La capacità di fornire legami idrogeno con analiti contenenti atomi elettronegativi<sup>3</sup> ha evidenziato una buona sensibilità di risposta piezoelettrica, rendendo il polimero in oggetto idoneo per un impiego in qualità di coating per fibre SPME. Sono state quindi ottimizzate le condizioni di elettropolimerizzazione, effettuate mediante voltammetria ciclica, in termini di numero di scansioni, velocità di scansione e finestra di potenziale. Tali condizioni hanno permesso di ottenere fibre caratterizzate da uno spessore medio del coating pari a  $12 \pm 3 \mu\text{m}$  e da una buona ripetibilità di deposizione con  $\text{RSD} < 8\%$ . Le potenzialità applicative del nuovo materiale saranno quindi verificate per il campionamento selettivo di CVM in campioni ambientali.

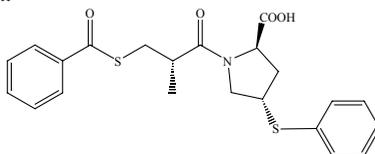
1. J. Pawliszyn *Solid Phase Microextraction*, Wiley-VCH Ed.; New York; **1997**.
2. F. Bianchi, M. Mattarozzi, P. Betti, F. Bisceglie, M. Careri, A. Mangia, L. Sidisky, S. Ongarato, E. Dalcanale *Anal. Chem.*, submitted for publication
3. A. Bello, F. Bianchi, M. Careri, M. Giannetto, V. Mastria, G. Mori, M. Musci *Sensors and Actuators B* **2007**, *125*, 321-325.

# Validazione di un metodo analitico nella determinazione simultanea di zofenopril e idroclorotiazide: confronto tra spettrofotometria UV-vis in derivata e HPLC

*L. Di Federico, P. Iuliani, G. Carlucci*

Università degli studi “G. D’Annunzio” Chieti-Pescara, Facoltà di Farmacia  
Dipartimento di Scienze del Farmaco, Via dei Vestini 66100 Chieti, Italia

Lo zofenopril, o (4*S*)-1-[(2*S*)-3-(benzoiltio)-2-metil-1-ossopropil]-4-(feniltio)-L-prolina, è un inibitore dell’enzima di conversione dell’angiotensina (ACE), in grado di diminuire la pressione arteriosa per riduzione delle resistenze vascolari periferiche. L’idroclorotiazide, o 6-cloro-3,4-diidro-2*H*-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamide 1,1-diossido, è un agente diuretico appartenente alla famiglia dei diuretici tiazidici largamente utilizzato nella cura dell’ipertensione. È stato riscontrato che la somministrazione orale di questi due principi attivi (figura 1) in associazione è particolarmente indicata in quei pazienti la cui pressione arteriosa non sia adeguatamente controllata attraverso monoterapia.



zofenopril

Figura 1

idroclorotiazide

Sono stati pubblicati diversi studi riguardanti la determinazione di idroclorotiazide da solo o in combinazione con altri farmaci [1,2], mentre è stato sviluppato un unico metodo per la determinazione dello zofenopril mediante cromatografia liquida accoppiata con spettrometria di massa (LC-MS-MS) [3]. Non sono stati invece pubblicati studi sulla determinazione simultanea dei due farmaci. Perciò sono stati sviluppati due metodi basati sulla spettrofotometria UV-vis in derivata e HPLC in fase inversa per la determinazione e la quantificazione simultanea dei due principi attivi in formulazioni farmaceutiche. In particolare la procedura in derivata è stata basata sulla relazione lineare tra la concentrazione del farmaco e l’ampiezza della derivata quarta nell’intervallo 268-274 nm e 248-250 nm per l’idroclorotiazide e lo zofenopril rispettivamente. Per la procedura HPLC è stata usata una colonna LiChrospher ed una fase mobile costituita da CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O con eluizione in gradiente. Entrambi i metodi sono risultati essere lineari nell’intervallo 1-20 µg/mL e 5-40 µg/mL per idroclorotiazide e zofenopril, rispettivamente. I metodi proposti sono stati successivamente applicati per la determinazione di questi farmaci in formulazioni farmaceutiche disponibili in commercio. Entrambi i metodi, oltre che una rapidità di esecuzione, mostrano risultati precisi ed accurati.

1. S. Saglik, O.Sagirli, S. Atmaca, L. Ersoy, *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 427, 253-257.
2. C. Vetuschi, A. Giannandrea, G. Carlucci, P. Mazzeo, *Il Farmaco*, **2005**, 60, 665-670.
3. L. Dal Bo, P. Mazzucchelli, A. Marzo, *J. Chromatogr. B*, **2000**, 749, 287-294

TC\_P17

## Caratterizzazione di legni provenienti da latifoglie e conifere mediante pirolisi analitica.

*V. Vinciguerra, A. Napoli, G. Petrucci*

Dipartimento di Scienze Ambientali, Università degli Studi della Tuscia, L.go dell'Università,  
Viterbo, vinciguerra@unitus.it

La caratterizzazione dei tessuti legnosi costituisce un importante strumento per tutte quelle attività che si occupano di stabilire quali siano le specie arboree di provenienza del legno impiegato in manufatti vari. Le tecniche che si basano sull'esame approfondito sia delle caratteristiche morfologiche e meccaniche (esami microscopici, resistenze meccaniche sotto sforzo) sia di quelle chimico-fisiche del legno (contenuto di umidità, densità) non sono in grado, a volte, di fornire risposte certe.

La pirolisi analitica, soprattutto se coadiuvata dalla spettrometria di massa, può costituire un utile complemento alle tecniche più tradizionali poiché fornisce informazioni sulla struttura chimica dei componenti principali del legno quali la lignina e le cellulose. La lignina, in particolare, è un polimero naturale costituito da unità monomeriche di tipo fenolico che possono differire tra loro per quanto riguarda la sostituzione dell'anello aromatico. I prodotti di pirolisi della lignina costituiscono miscele relativamente semplici e riproducibili di composti fenolici. Inoltre, questi composti mantengono lo schema di sostituzione originale rendendo più semplice la ricostruzione della struttura polimerica della lignina da cui derivano. Studi basati sulla pirolisi analitica mettono in evidenza che, in generale, legni di specie arboree diverse contengono lignina con struttura chimica diversa; questo si riscontra sia nell'ambito delle conifere [1] che in quello delle latifoglie [2,3].

Nell'ambito di uno studio di caratterizzazione di tessuti legnosi di varia provenienza e diverso stato di conservazione, abbiamo applicato la pirolisi analitica a 9 campioni di legno prelevati da piante in piedi di cui 6 latifoglie e 3 conifere; sono state effettuate analisi sia mediante pirolisi-gascromatografia-spettrometria di massa (Py-GC-MS) sia mediante pirolisi a temperatura programmata-spettrometria di massa (TPPy-MS). Dai pirogrammi ottenuti con la Py-GC-MS sono stati calcolate le quantità relative dei prodotti di pirolisi ottenuti e, dove possibile, sono state evidenziate correlazioni tra la composizione fenolica del pirolizzato e la provenienza dei campioni. Le curve di decomposizione ottenute con la TPPy-MS mostrano invece l'andamento dei gas svolti in funzione della temperatura ed hanno permesso di cogliere significative differenze tra i campioni provenienti dalle conifere e quelli provenienti dalle latifoglie.

*Ringraziamenti Si ringrazia la Dott.ssa Angela Bistoni e il Dott. Rocco Sgherzi per aver fornito la maggior parte dei campioni esaminati.*

1. K. Kuroda, A. Yamaguchi *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **1995**, 33, 51-59.
2. E. Jakab, O. Faix, F. Till *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **1997**, 40-41, 171-186.
3. M.F. Nonier, N. Vivas, N. Vivas de Gaulejac, C. Absalon, Ph. Soulié, E. Fouquet *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2006**, 75, 181-193.

## **Valutazione della componente fenolica in oli extravergini d'oliva prodotti in diverse regioni italiane**

*E. Romano, C. Benincasa, M. A. Caravita, D. Bartoletti, M. R. Parise, M. R. Sposato, E. Perri, M. Pellegrino*

Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, C/da Li Rocchi 87036 Rende CS (Italia)

In virtù delle sue caratteristiche, l'olio d'oliva è un vero e proprio alimento nutraceutico. Fino a pochi anni fa le proprietà dell'olio venivano prevalentemente attribuite alla composizione in acidi grassi, e in particolare ai monoinsaturi (oleico) e ai polinsaturi (linoleico e linolenico).

I risultati delle ricerche condotte recentemente ampliano il campo d'azione a livello salutistico anche ad altri componenti tra cui i fenoli. Tali composti, infatti, sono responsabili di alcune caratteristiche organolettiche e della conservabilità dell'olio, opponendosi ai processi di ossidazione e quindi prevenendone l'irrancidimento.

Gli oli oggetto di studio sono stati prodotti nell'annata 2006/2007 e su di essi sono stati determinati il contenuto in fenoli totali e singoli secondo metodi adottati presso il CRA OLI, basati su tecniche colorimetriche e determinazione mediante HPLC/UV.

Lo scopo della ricerca è stato quello di valutare, comparare e caratterizzare gli oli d'oliva vergini provenienti da diverse regioni italiane, ottenuti da differenti cv al fine di valutare come il genotipo, le condizioni pedo-climatiche e i processi estrattivi influenzino il contenuto di questi composti minori polari.

In generale, è stato osservata una notevole influenza del genotipo sia sul contenuto dei fenoli totali che su quello dei principali composti. Notevole è risultato anche l'effetto del grado di maturazione.

TC\_P19

## **Caratterizzazione e tracciabilità di oli di oliva monovarietali della Sardegna**

*E. Romano\**, *C. Benincasa\**, *M. A. Caravita\**, *F. De Rose\**,  
*M. R. Parise\**, *E. Perri\**, *G. Bandino†*

\*Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, C/da Li Rocchi 87036 Rende CS (Italia)  
†Agris Sardegna, Cagliari (Italia)

Gli oli di oliva della Sardegna hanno raggiunto standard qualitativi di grande pregio, grazie anche agli elementi di tipicità che derivano dalla straordinaria vocazione del territorio per la coltura dell'olivo e dall'originale germoplasma della specie.

In questo lavoro sono stati analizzati gli oli di diverse cv delle annate 2005/2006 e 2006/2007.

Il presente lavoro illustra sia i valori medi dei principali parametri qualitativi merceologici e nutrizionali che i risultati dell'analisi chemiometrica al fine di valutare la classificazione geografica degli oli e la loro eventuale rintracciabilità.

## **Effetti dei processi produttivi su oli provenienti da diverse cultivar dell'Italia meridionale**

*E. Romano, C. Benincasa, M. A. Caravita, D. Bartoletti, F. De Rose, A. Parise, M. R. Parise, E. Perri, P. Tucci, B. Rizzuti*

Centro di Ricerca per l'Olivicoltura e l'Industria Olearia, C/da Li Rocchi 87036 Rende CS (Italia)

L'olio extravergine di oliva rappresenta il condimento ideale per una sana alimentazione. La sua composizione ricca in acidi grassi e la presenza di preziosi costituenti minori, lo rendono un alimento unico sia da un punto di vista nutrizionale che organolettico.

La qualità dell'olio di oliva è influenzata da tantissimi fattori fra cui la cultivar, la maturazione delle olive, le condizioni pedo-climatiche, le modalità di raccolta, di stoccaggio e di lavorazione del frutto.

In questo lavoro, oli extravergini d'oliva dell'annata 2006/2007, appartenenti a differenti cv e provenienti dalle regioni Sicilia, Calabria, Puglia e Basilicata sono stati moliti con un minifrantoio. La tecnologia estrattiva prevedeva la frangitura, la gramolatura per 20 minuti e successiva centrifugazione. Al fine di valutare come i processi di lavorazione del frutto potessero influire sulle caratteristiche nutraceutiche degli oli, i campioni di ogni singola cv e provenienti dai diversi areali sono stati ottenuti anche mediante denocciatura. Gli oli denocciolati e non sono stati sottoposti a gramolatura sotto azoto. Sugli oli sono stati determinati: acidità, n. di perossidi, estinzioni specifiche nell'UV, composizione percentuale degli esteri metilici degli acidi grassi, composizione degli steroli, steroli totali, eritrodiole, uvaolo ed alcoli alifatici secondo le metodiche ufficiali (Reg. CE 1989/2003); fenoli totali, fenoli singoli e tocoferoli, secondo le metodiche adottate presso il CRA OLI.

Si è potuto così monitorare come, in funzione di cv, areali e processi di lavorazione del frutto, varino le caratteristiche chimiche ed organolettiche degli oli in esame.

TC\_P21

## Development of a new device for ultrasensitive electrochemiluminescence microscope imaging

L.S. Dolci,<sup>\*</sup> E. Marzocchi<sup>\*\*</sup>, S. Zanarini<sup>†</sup>, L. Della Ciana<sup>\*\*</sup>, M. Marcaccio<sup>†</sup>, F. Paolucci<sup>†</sup>, A. Roda<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, University of Bologna, 40126 Bologna, Italy

<sup>\*\*</sup>Cyanagen s.r.l., via Stradelli Guelfi 40/c, 40138 Bologna, Italy

<sup>†</sup>Department of Chemistry G. Ciamician, University of Bologna, Bologna 40126, Italy

Electrogenerated chemiluminescence (ECL) is a highly sensitive detection technique widely used in bioanalysis. Until now no applications have been reported on the use of ECL for ultrasensitive low-light imaging microscopy of immunohistochemical (IHC) and hybridization (ISH) methods on cells or biological tissue. Here we describe a new electrochemical cell designed for ECL microscope imaging. The cell is made with Indium-Tin-Oxide (ITO)-coated glass working and counter electrodes and an Ag semi-reference electrode in a standard three-electrode configuration. By applying a suitable potential, the ECL signal of a probe can be triggered within the cell and imaged by an optical microscope connected to an ultrasensitive nitrogen-cooled CCD camera. In order to simulate structured biological specimens, high density metal-cored plastic microbeads (8 micron diameter) were covalently coupled to an ECL-active ruthenium complex, analyzed with the ECL device and imaged at a micrometer spatial resolution. Work currently in progress aimed to achieve ECL imaging in model samples through biospecific recognition reactions (e.g., by employing biotinylated microbeads and a ruthenium complex-labeled streptavidin as the detection reagent), thus opening the way to ECL-based ultrasensitive IHC and ISH assays. This technique could be extended in the application of integrate microsystem and microfluidic electrochemical devices.

## Characterization of new flavonoids in Pummelo juice by high resolution tandem mass spectrometry.

*D. Taverna, R. Salerno, L. Di Donna, F. Mazzotti, G. Sindona*

Dipartimento di Chimica, Università della Calabria Via P. Bucci, Cubo 12/C, 87036,  
Arcavacata di Rende (CS),  
e-mail: [domenico.taverna@unical.it](mailto:domenico.taverna@unical.it)

Pummelo is the common name of the fruit belonging to the genus *Citrus* and Species *Grandis*. As other citrus fruits pummelo tissues contains a large amount of flavonoids; epidemiological studies have shown an inverse relationship between dietary flavonoid intakes and cardiovascular diseases. Furthermore, dietary flavonoids may help to supplement the body antioxidant defences against free radicals; the beneficial effects of the former are due to their antioxidant activity, which is related to the development of atherosclerosis and cancer, and to anti-inflammatory and antimicrobial activity.<sup>1,2</sup> The major flavonoidic compounds of pummelo are naringin and rhoifolin; other species present in minor amount have been found to be hesperidin eriocitrin and neoeriocitrin.<sup>3</sup> A screening of the molecules present in pummelo performed by LC/MS/UV analysis showed other unknown high molecular mass compounds, the more abundants of which have been separated through semi-preparative HPLC and submitted to HRMS spettroscopy. By following the extracted ion chromatograms from the HPLC run, compounds **1**, **2** and **3** having  $m/z$  667, 743 and 829 have been isolated and structurally characterized. In particular compound **1** is a malonyl conjugate of naringin formerly known<sup>4</sup> in grapefruit leaves, while **2** is a glucose conjugate of naringin. Either **1** and **2** have been fully characterized by HRMSMS and NMR spectroscopy, while the structure of compound **3**, which is a glycosidic conjugate of **1** present at minor amount, was elucidated only through High Resolution Tandem Mass Spectrometry.

- 1- Tripoli E., La Guaria M., Giammanco S., Di Majo D., Giammanco M., Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review, *Food Chemistry* **2007** 104, 446-479.
- 2- Mokbel M.S., Sukanuma T., Antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts from pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) fruit albedo tissues, *Eur Food Res Technol* **2006**, 224, 39-47.
- 3- Kawaii S., Tomono Y., Katase E., Ogawa K., Yano M., Quantitation of Flavonoid Constituents in Citrus Fruits, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, 47, 3565-3571.
- 4- Berhow M.A., Bennett R.D., Kanes K., Poling M. and Vandercook C.E., A malonic ester derivate of naringin in grapefruit, *Phytochemistry* **1991**, 30, 12, 4198-4200.

## Sviluppo di un metodo LC/MS per l'analisi di proteine con alta efficienza e precisione

*P. Donato\**, *F. Cacciola\**, *P. Dugo<sup>†</sup>*, *G. Dugo\**, *L. Mondello\**

\*Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata s.n., 98168 Messina, Italia

<sup>†</sup>Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell'Ambiente, Università di Messina, Salita Sperone s.n., 98166 Messina, Italia

Negli ultimi decenni l'uso della cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (LC/MS) ha ricevuto un forte impulso nell'analisi di sistemi biochimici quali proteine e peptidi, specie da quando la ionizzazione elettrospray (ESI) ha innalzato la sensibilità della tecnica ai livelli richiesti dalla moderna proteomica. La spettrometria di massa rappresenta la tecnica di elezione per ottenere misure precise della massa dei polipeptidi o dei loro prodotti di frammentazione proteolitica. L'elevata affidabilità delle identificazioni ottenibili utilizzando i dati forniti dall'analisi spettrometrica si basa proprio sulla altissima precisione con la quale si possono misurare le masse molecolari, per cui è possibile descrivere degli stessi polipeptidi anche la struttura primaria e rilevare con accuratezza anche modificazioni post-traduzionali delle proteine allo studio. Inoltre i dati di massa sequenziale ( $MS^n$ ) ottenuti con le configurazioni più evolute dello spettrometro di massa (*ion trap/TOF*) possono essere impiegati per l'identificazione delle proteine per confronto con librerie, mediante algoritmi appositamente sviluppati.

Dal punto di vista cromatografico, la crescente richiesta di applicazioni ad alta produttività e risoluzione ha fortemente motivato i progressi tecnologici sia nelle colonne HPLC che negli strumenti, allo scopo di migliorare velocità, sensibilità, selettività e robustezza. Nel caso di campioni di composizione molto complessa, il lento trasferimento di massa delle molecole di soluto all'interno della fase stazionaria può seriamente compromettere il potere di risoluzione dell'analisi. La tecnologia Fused-Core<sup>TM</sup> di recente introduzione supera tale inconveniente riducendo il percorso di diffusione attraverso la fase stazionaria porosa a soli 0,5  $\mu$ m (2,7  $\mu$ m diametro totale della particella) e minimizzando in tal modo il fenomeno di allargamento di banda. Inoltre, caratteristiche del materiale ed uniformità dell'impaccamento mantengono l'efficienza elevata anche ad alti flussi e con contropressioni vantaggiosamente ridotte.

Il presente lavoro di ricerca ha avuto come oggetto l'analisi di un digerito triptico di albumina di siero umana, impiegando uno strumento LCMS-IT-TOF (Shimadzu, Japan) con interfaccia di tipo ESI e colonne C18 (15 cm x 4.6 mm I.D.) con particelle da 2,7  $\mu$ m (Ascentis Express<sup>®</sup>, Supelco, PA). L'elevata efficienza e la ridotta contropressione hanno consentito l'accoppiamento seriale di tre colonne ad alta temperatura (60°C) e la generazione di circa 200.000 piatti/metro con uno strumento HPLC convenzionale. I frammenti ottenuti dall'analisi di massa sequenziale nello spettrometro di massa ibrido sono stati utilizzati per l'identificazione della proteina mediante ricerca nel database MASCOT.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR "Sviluppo di metodologie innovative per l'analisi di prodotti agroalimentari". Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

# Identificazione e Quantificazione di Composti Nocivi nelle Benzine Mediante un Sistema Multidimensionale GC-MS

*D. Sciarrone*<sup>\*</sup>, *P. Q. Tranchida*<sup>\*</sup>, *P. Dugo*<sup>†</sup>, *G. Dugo*<sup>\*</sup>, *L. Mondello*<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italia

<sup>†</sup>Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell'Ambiente, Università di Messina, Salita Sperone, 98166 Messina, Italia.

La benzina, come tutte le frazioni provenienti dal petrolio è una matrice alquanto complessa, nella quale sono presenti centinaia di differenti componenti, a volte addizionati per migliorarne le caratteristiche. Tra le sostanze comunemente presenti in tale matrice, il benzene è sicuramente da tempo noto come uno dei composti nocivi più pericolosi. La riduzione dei livelli di tale sostanza, con un conseguente ridimensionamento dell'inquinamento generato dalla combustione nei motori per autotrazione, è ormai un obiettivo della Comunità Europea. A tale proposito, leggi comunitarie specificano un massimo livello per il benzene dell'1% (v/v) nelle benzine<sup>1</sup>. Recentemente, insieme al benzene sono stati sottoposti a limitazioni per il loro potenziale nocivo, toluene, etil benzene, *o,m* e *p*-xilene, conosciuti nell'insieme con l'acronimo BTEX. Moderne tecnologie includono la gas cromatografia (GC), la spettrometria di massa (MS), la spettroscopia infrarossa (IR), ultravioletta (UV) e di fluorescenza, come anche tecniche accoppiate quali la GC-MS. Tra queste la GC e la GC-MS capillare rivestono sicuramente un ruolo primario per l'analisi di tali sostanze nella benzina<sup>2-3</sup>. Tuttavia, spesso la complessità della matrice rende probabile la sovrapposizione dei composti di interesse con altri componenti, ostacolandone l'individuazione e portando spesso ad errori di quantificazione.

Un incremento del potere separativo è ottenibile utilizzando un sistema multidimensionale GC, basato su un sistema di "Deans switch", accoppiato ad uno spettrometro di massa. Tale approccio rende possibile risolvere le coeluzioni normalmente presenti permettendo una sicura identificazione mediante confronto degli spettri di massa, ed una accurata quantificazione ottenuta mediante l'impiego della normativa Europea UNI EN 12177.

*Ringraziamenti: Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

1. Directive 98/70/EC of the European Parliament and of the Council, 13 October, 1998.
2. ASTM D 5769-98. Standard Test Method for Determination of Benzene, Toluene, and Total Aromatics in Finished Gasoline by Gas Chromatography Method.
3. IP 425/96 Determination of Benzene Content of petrol - Gas chromatography Method

## Confronto di procedure di clean-up e messa a punto di un metodo per la determinazione di pesticidi clorurati in campioni di mangimi per pesci mediante GC/MS tandem.

V. Nardelli <sup>†</sup>, D. dell'Oro <sup>†</sup>, F. Casamassima <sup>†</sup>, C. Palermo <sup>\*</sup>, D. Centonze <sup>\*</sup>

<sup>†</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata – Foggia;

<sup>\*</sup>DiSACD, Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Foggia.

Il problema della contaminazione da pesticidi organoclorurati nei mangimi impiegati in itticoltura riveste particolare importanza in seguito ai gravi effetti tossici, alla possibilità di bioaccumulazione e biomagnificazione ed alla diffusione degli stessi in ambienti abiotici e biotici. I mangimi per pesci sono composti principalmente da farina ed olio di pesce, in percentuali che variano dal 50 all'80%; tali ingredienti derivano da pesce fresco di basso pregio commerciale con aggiunta di proteine di origine vegetale costituite, per la quasi totalità, da farine di soia. Un'opportuna purificazione di tali matrici è, perciò, di fondamentale importanza per una accurata analisi qualitativa dei campioni contaminati da tali pesticidi al fine di evitare la coestrazione di composti lipidici, pigmenti e interferenti vari.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di sviluppare un nuovo metodo multiresiduale mediante estrazione in fase solida e determinazione in GC/MS tandem con analizzatore a triplo quadrupolo di 16 pesticidi organoclorurati (Aldrin, Dieldrin, Endrin, Eptacloro, Eptacloro epossido,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, e  $\delta$ - HCH,  $\alpha$ - e  $\beta$  Endosulfan, Endosulfan solfato, p,p'- DDT, p,p'- DDD, p,p'- DDE, Metossicloro) utilizzando HCB come standard interno. Per mettere a punto un metodo di purificazione adeguato alle matrici oggetto di studio, sono state provate varie metodiche analitiche [1, 2], ottimizzando le procedure nelle varie fasi di esecuzione al fine di migliorare la risposta analitica, la sensibilità e la risoluzione dei picchi cromatografici. In particolare è stato valutato l'utilizzo combinato di terra di diatomee con diverse colonne SPE quali C18, Florisil and Bond Elut PCB, mediante analisi ripetute di campioni fortificati a 25-50-100 ng/g di grasso. Le colonnine Bond Elut PCB a letto misto (benzensolfoniche e silice) consentono un notevole miglioramento della qualità degli estratti, che risultano più limpidi e meno viscosi. Sono state calcolate, per ogni pesticida, le prestazioni del metodo, quali precisione, accuratezza, linearità, LOD e LOQ. I limiti di rivelazione sono compresi tra 0,02 a 0,30 ng/g e l'analisi statistica dei parametri di regressione ha confermato la linearità di risposta per tutti i pesticidi analizzati con coefficienti di determinazione  $R^2 > 0,99$  e valori di intercetta entro i limiti di fiducia calcolati nel range di concentrazioni esplorate (5 - 10 - 25 - 50 e 100  $\mu\text{g/l}$ ). In accordo con l'equazione di Horwitz [3] il metodo mostra buoni valori di ripetibilità compresi tra il 3 e il 15%, calcolati in termini di CV% su sei campioni fortificati alla concentrazione di 100 ng/g di grasso, corrispondente a 20 ng/g di mangime, con valori di recupero dal 92% al 116 %.

[1] V. Nardelli, C. Palermo, D. Centonze. J. Chromatogr. A, 1034 (2004) 33

[2] Di Muccio et al. J. Chromatogr. A, 765 (1997) 61.

[3] Decisione 657/2002/CE.

## **Campionamento solido grazie alla Laser Ablation accoppiata alla tecnica ICP-MS**

M. Bolchi

PerkinElmer Italia, Via Tiepolo, 24 - 20052 Monza (Milano)

L'analisi inorganica con tecniche spettrometriche, quali ICP-MS, ICP-OES e AA, prevede, generalmente, un processo di preparazione campione tramite digestione acida per la dissoluzione completa della matrice e successiva analisi dei metalli di tutta la tavola periodica.

Spesso, però, tutto ciò non è possibile a causa della natura del campione in analisi.

Applicare una tecnica distruttiva ad un campione di un certo valore, come un diamante per esempio, sarebbe molto dispendiosa per chi lo produce, così come nel caso di un raro reperto archeologico di valore storico.

Tutto questo, oggi è possibile accoppiando alla tecnica ICP-MS il campionamento solido tramite laser ablation; l'incisione che il laser effettua sul campione è molto precisa, accurata, non distruttiva e fornisce un campionamento rappresentativo per una completa analisi inorganica in ICP-MS a livello di tracce e ultratracce.

I vantaggi sono molteplici:

- riduzione della contaminazione dei campioni
- possibilità di avere informazioni spaziali sia in superficie che in profondità nel caso di disomogeneità del campione
- nessuna preparazione del campione
- eccezionale sensibilità grazie alla tecnica ICP-MS con tempi di analisi molto veloci

Questa tecnica infatti si presta a molteplici applicazioni: analisi geologiche e numismatiche, analisi di materiali e pietre preziose, analisi di plastiche, vetri e ceramiche.

La flessibilità della tecnica è quindi elevata e ben consolidata.

## Utilizzo della tecnica analitica Laser Ablation -ICP-MS per studi geochimica nel campo dei Beni Culturali

*D. Barca, G. M. Crisci, A. M. De Francesco, D. Miriello*

Dipartimento di Scienze della Terra, Università della Calabria  
Via Pietro Bucci, Cubo 12/B - 87036 Rende (CS)  
d.barca@unical.it

Il sistema LA- ICP-MS consente di analizzare campioni solidi, di dimensione centimetrica, senza che su di essi venga eseguito alcun processo di polverizzazione e successiva digestione. L'ablazione del campione avviene in un'apposita cella attraverso un raggio laser che ha una lunghezza d'onda di 213 nm ed ha una risoluzione spaziale (spot) che può variare da 4 a 100 micron; una volta avvenuta l'ablazione il materiale viene trasportato da un flusso continuo di Argon ed Elio allo spettrometro dove viene atomizzato e ionizzato per la quantificazione.

La metodologia analitica LA-ICP-MS, per le sue peculiarità, si presta a studi petrologici complessi ed inoltre, grazie alla sua "non distruttività" ed alla capacità di analizzare un gran numero di elementi in tracce e terre rare con limite di rilevabilità dell'ordine dei ppm, si è rivelata particolarmente indicata per le analisi sui frammenti solidi nell'ambito dei Beni Culturali, sia per la conservazione, sia per l'analisi dei manufatti artistici.

Risultati importanti sono stati ottenuti utilizzando tale tecnica per analisi su campioni di malte e su reperti archeologici di ossidiana e/o di vetri storici con l'obiettivo di risalire alla provenienza dei materiali utilizzati. Lo studio delle fonti di ossidiana dell'area peri-tirrenica ha dato risultati soddisfacenti difatti, attraverso il confronto tra le caratteristiche geochimiche dell'ossidiana dei manufatti con quelle delle possibili fonti di questa materia prima, è stato possibile risalire alla provenienza di alcuni frammenti archeologici. In particolare sono state caratterizzate geochimicamente, tramite l'utilizzo di diagrammi discriminanti che tengono conto di elementi in tracce e Terre Rare (Zr, Y, Sr, Ba, La, Ce...), tutte le sorgenti di ossidiana dell'area peri-tirrenica (Lipari - Isole Eolie, Monte Arci - Sardegna, Palmarola - Campania e Pantelleria - Sicilia); successivamente, sempre utilizzando la tecnica LA-ICP-MS, è stato possibile stabilire la provenienza di alcuni reperti di ossidiana provenienti dai siti Neolitici italiani (Monte Covolo in Lombardia, Spazzavento in Toscana, Grotta della Serratura in Campania, Colle Cera in Abruzzo).

La caratterizzazione geochimica tramite LA-ICP-MS di ventisei reperti vitrei, rinvenuti nei pressi del Castello Svevo di Cosenza, ha permesso la distinzione degli stessi in due diversi gruppi composizionali più alcuni campioni "outlier". Le concentrazioni degli elementi in tracce hanno permesso inoltre l'attribuzione di più frammenti ad uno stesso oggetto nei casi in cui si è constatata la perfetta coincidenza delle concentrazioni degli elementi in tracce. Infine lo studio geochimico ha consentito di individuare il legame esistente tra composizione chimica e colorazione dei frammenti vitrei.

Tale tecnica analitica è stata altresì applicata ai grumi di calce presenti in alcuni reperti del pavimento del tempio di Teopancazco in Teotihuacan-Mexico, una delle città Mesoamericane più importanti del periodo classico. Scopo principale della ricerca è stato quello di individuare le aree di approvvigionamento sfruttate dai Teotihuacani per la produzione della calce. Tale obiettivo è stato raggiunto paragonando i dati ottenuti sui grumi di calce con le analisi eseguite su 25 campioni di calcare prelevati nelle cave già precedentemente individuate come possibili aree di approvvigionamento.

Il confronto tra i dati geologici ed i dati archeologici ha consentito di individuare l'area sorgente, consentendo di ricostruire le vie di trasporto, i collegamenti, ed indirettamente, le consuetudini socio - economiche delle popolazioni mesoamericane.

## Un approccio multianalitico per la caratterizzazione dei tessuti funerari di alcune mummie precolombiane

I. Degano, M. P. Colombini, F. Modugno

Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università di Pisa  
Via Risorgimento, 35, 56126 Pisa, [ilariad@ccci.unipi.it](mailto:ilariad@ccci.unipi.it)

Nella cornice di un progetto di valorizzazione scientifica e di fruizione museografica attivata dai Musei Civici di Reggio Emilia, una serie di mummie di origine andina (tre corpi completi e tre teschi) è stata sottoposta ad analisi scientifiche di tipo chimico-fisico. Le mummie appartengono a una serie di ritrovamenti risalenti a una campagna archeologica effettuata nel 1884 nella necropoli di Ancòn, a 30 Km a nord di Lima (Perù). La zona di Ancòn, colonizzata durante il III millennio a.C., fiorì sotto gli imperi principali del Perù pre-incaico, Pachacamac e Huari, e raggiunse la sua massima estensione durante il periodo Chancay (1000-1400 d.C.).

In particolare, sono stati analizzati alcuni campioni tessili (bende, abiti e frammenti sparsi) nonché di capelli prelevati da tre teschi. Le analisi sono volte a identificare i coloranti organici impiegati nella tintura di alcuni tessuti nonché al riconoscimento del materiale utilizzato per tingere i capelli di una delle mummie. Inoltre, sono stati indagati i materiali organici adsorbiti sulle bende di mummificazione.

Per poter effettuare una caratterizzazione completa dei materiali in esame è stato necessario adottare un approccio multianalitico. In particolare per il riconoscimento di coloranti organici, lipidi, resine e cere sono state impiegate tecniche micro distruttive di natura cromatografica e di spettrometria di massa, cioè HPLC-UV/Vis e GC-MS. I diversi materiali sono stati identificati tramite la determinazione di marker molecolari presenti nei campioni antichi e tramite confronto con materiali di riferimento. Al contempo, allo scopo di identificare materiali inorganici è stata impiegata la spettroscopia FT-IR.

L'approccio multianalitico ha permesso di identificare i materiali organici e inorganici presenti nei campioni e quindi di poter identificare differenze e somiglianze tra i corredi delle diverse mummie.

J. Wouters, N. Rosario-Chrinos *JAIC* **1992**, *31*, 237-255.

X. Zhang, R. Boytner, J.L. Cabrera, R. Laursen *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 1575-1582.

M.P. Colombini, F. Modugno, E. Ribechini *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2006**, *20*, 1787-1800.

# Valutazione delle modalità di deposizione di sostanze impregnanti nei trattamenti conservativi del legno archeologico imbibito mediante microtomografia a raggi X con luce di sincrotrone

S. Bugani<sup>1</sup>, S. Cagno<sup>2</sup>, P. Cloetens<sup>3</sup>, M. P. Colombini<sup>4</sup>, G. Giachi<sup>5</sup>, K. Janssens<sup>2</sup>, J. J. Lucejko<sup>4</sup>,  
F. Modugno<sup>4</sup>, L. Morselli<sup>1</sup>, F. Passarini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università di Bologna, Dip. di Chimica Industriale e dei Materiali, Viale del Risorgimento 4, I-40136 Bologna

<sup>2</sup> University of Antwerp, Dept. of Chemistry, Universiteitsplein 1, B-2610 Antwerp, Belgium;

<sup>3</sup> European Synchrotron Radiation Facility, 6 rue Jules Horowitz, BP220, F-38043 Grenoble CEDEX, France

<sup>4</sup> Università di Pisa, Dip. di Chimica e Chimica Industriale, Via Risorgimento 35, I-56126 Pisa;

<sup>5</sup> Soprintendenza ai Beni Archeologici per la Toscana, Laboratorio di Analisi, L.go del Boschetto 3, I-50143 Firenze. E mail: frances@dcc.unipi.it

La conservazione di reperti in legno è favorita da condizioni di completa imbibizione, specie quando la quantità di ossigeno è scarsa o nulla, oppure da temperature molto basse. In tal modo il degrado del legno rallenta o cessa, conseguentemente allo stesso andamento dell'attività degli organismi xilofagi, principale causa del processo. Al momento del recupero questi reperti pur mantenendo spesso forma e dimensioni simili a quelle originarie, presentano una diminuzione di sostanza legno, diminuzione legata essenzialmente alla perdita delle componenti polisaccaridiche (emicellulose e cellulosa) e che ne causa l'aumento della porosità [1]. La conservazione del legno degradato ed imbibito implica l'adozione di procedimenti complessi, soprattutto per il rischio connesso all'eliminazione dell'acqua che, quando avviene in maniera spontanea e con un degrado pronunciato, porta al collasso delle fibre legnose ed alla conseguente produzione di distorsioni e fessurazioni anche molto gravi. Alcuni fra questi procedimenti adottano l'impregnazione del legno con sostanze che vanno a sostituire in maniera permanente l'acqua. La loro efficacia è condizionata, oltre che dalle caratteristiche delle sostanze impiegate, anche dalle diverse modalità di deposizione di queste nelle porosità della struttura del legno. La penetrazione e la distribuzione di dieci tipi di materiali consolidanti in provini di legno archeologico (pino e olmo) è stata investigata mediante microtomografia ai raggi X [2] con luce di sincrotrone (SR- $\mu$ CT). L'imaging non distruttivo mediante tomografia ai raggi X permette di visualizzare in 3D e in 2D la microstruttura interna dei campioni lignei, e di valutare la localizzazione dei materiali consolidanti a diverse profondità. Le analisi sono state effettuate presso la beamline ID 19 di ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) di Grenoble [3]. I campioni lignei esaminati sono stati preparati e messi a disposizione dalla Soprintendenza ai Beni Archeologici per la Toscana nel corso di un progetto di sperimentazione volto alla conservazione dei reperti rinvenuti nel Sito della Navi Antiche di Pisa, dove sono stati portati alla luce, fra i numerosi reperti lignei, alcuni scafi di imbarcazioni di epoca romana.

1. P. Hoffmann, M.A. Jones, in Rawell R. M., Barbour R. J. (Eds.), "Archaeological Wood, Chemistry, Properties and Preservation", *Advances in Chemical Series 225*, American Chemical Society, Washington, 1990, 35-65.
2. Sasov & D. Van Dyck, *Journal of Microscopy* 191, 1998, 151-158.
3. J.I. Espeso, P. Cloetens, J. Baruchel, J. Härtwig, T. Mairs, J.C. Biasci, G. Marot, M. Salomé-Pateyron and M. Schlenker, *Journal of Synchrotron Radiation* 5, 1998, 1243-1249.

## Studio del “San Pietro Martire” di Giovanni Bellini

*I. van der Werf*<sup>\*</sup>, *A. Monno*<sup>§†</sup>, *C.D. Calvano*<sup>\*</sup>, *I. Bonaduce*<sup>#</sup>, *R. Laviano*<sup>§†</sup>, *L. Sabbatini*<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari; ivanderwerf@chimica.uniba.it

<sup>§</sup>Dipartimento Geomineralogico, Università degli Studi di Bari

<sup>#</sup>Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università degli Studi di Pisa

<sup>†</sup>Centro interdipartimentale “Laboratorio di Ricerca per la Diagnostica dei Beni Culturali”,  
Università degli Studi di Bari

L'esame del dipinto su tavola “San Pietro Martire” di Giovanni Bellini (Pinacoteca Provinciale di Bari) ha avuto inizio in occasione del recente restauro. Scopo delle indagini scientifiche era ottenere informazioni sui materiali e sulle tecniche usate al fine di ampliare le conoscenze sul *modus operandi* del Bellini e, confrontando i risultati ottenuti con i dati di letteratura, dare un contributo per la collocazione cronologica di questo dipinto nella vasta opera del pittore veneziano. Negli anni passati numerosi dipinti di Giovanni Bellini sono stati sottoposti ad un'indagine scientifica approfondita, esaminando gli strati di preparazione, i pigmenti ed i leganti pittorici. Le indagini condotte, mediante tecniche analitiche di livello più o meno avanzato, hanno fornito una banca dati significativa sull'evoluzione della tecnica pittorica del Bellini e, di riflesso, di quella relativa al periodo storico in cui l'artista ha operato (tra il XV e XVI secolo). In particolare, è stato possibile acquisire ulteriori dati sulla graduale introduzione degli olii siccativi quale legante pittorico, prima in combinazione e poi in alternativa alla tempera.

Per lo studio dei materiali e della tecnica pittorica del “San Pietro Martire” ci si è avvalsi di tecniche analitiche microdistruttive in quanto applicabili a quantitativi di materiale inferiori al milligrammo, prelevati in punti diversi del dipinto. Dapprima tutti i campioni sono stati sottoposti ad un attento esame allo stereomicroscopio. Su alcuni frammenti è stata condotta un'analisi chimica elementare con l'ausilio del SEM dotato di un dispositivo per la spettroscopia a dispersione di energia (EDS). Per il riconoscimento delle sostanze organiche (leganti, vernice, ecc.) sono state impiegate le seguenti tecniche analitiche: gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC-MS), pirolisi-GC-MS (Py-GC-MS) e matrix-assisted laser desorption/ionization spettrometria di massa (MALDI-MS).

## Confronto tra invecchiamento artificiale e naturale di campioni di carta

*L. Campanella, C. Costanza, A. D'Aguanno, S. Di Carlo*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Roma "La Sapienza"  
Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma

L'invecchiamento artificiale della carta permette di conoscerne il comportamento nel tempo rispetto alle variazioni sollecitate di parametri ambientali quali temperatura, umidità, radiazioni ultraviolette e la sua stabilità, e quindi, simulando processi di alterazione simili a quelli reali, fatti avvenire però in tempi assai più brevi, di valutare i prodotti di degradazione che si formano durante l'invecchiamento naturale. Tuttavia ogni variazione di parametri comporta un'inerzia della carta soggetta a variazione, di cui spesso non si tiene conto e che è una caratteristica della carta stessa: inerzia a modificare la propria natura chimica, fisica, strutturale quando è sottoposta a stimoli che tendono a variarla. La capacità di adeguamento a tale variazione può in molti casi essere assai superiore alle perturbazioni indotte. Nell'invecchiamento artificiale accelerato invece le variazioni rapide comportano la possibilità di una mancanza di adeguamento.

In questo lavoro campioni di carta comune: 1) non stampata, 2) stampata, 3) prelevata da carta stampata nella parte non stampata, invecchiati artificialmente in un veterometro e campioni di carta prelevati da libri datati, invecchiati naturalmente, sono stati analizzati con un fotosensore innovativo basato sulla radiazione UV e biossido di titanio, rispettivamente attivatore e fotocatalizzatore della degradazione ossidativa della carta, attraverso la misura del tempo di induzione della reazione di ossidazione e, passato tale tempo, della velocità di produzione di CO<sub>2</sub> [1-3]. Come espressione del processo ossidativo si ricava un indice di persistenza ambientale o ecopersistenza, che consente di valutare la stabilità della carta nel tempo.

I risultati indicano che con l'invecchiamento si registra una diminuzione della persistenza ambientale che risulta circa 3 volte maggiore nell'invecchiamento artificiale rispetto a quello naturale. Inoltre è possibile valutare la corrispondenza fra invecchiamenti naturale e artificiale.

1. L. Campanella, M. Battilotti, C. Costanza, Studies on simulated ageing of paper by photochemical degradation, *Annali di Chimica*, **2005**, 95, 727-739.
2. L. Campanella, C. Costanza, M. Tomassetti, Determination of environmental persistence and thermogravimetric analysis of paper artificially aged by photoirradiation, *Annali di Chimica*, **2006**, 96, 575-585.
3. L. Campanella, C. Costanza, M. Tomassetti, Trattamento della carta con antiossidanti, *La Chimica e l'industria*, **2005**, 87, 84 – 89.

## Invecchiamento artificiale di carta extra strong: confronto di “trend” ottenuti mediante elaborazione cinetica di curve termoanalitiche

L. Campanella\*, C. Costanza\*, M. Tomassetti\*, S. Vecchio†

\* Dipartimento di Chimica, P.le A. Moro 5, 00185 Roma

† Dip. di Ingegneria Chimica Materiali Ambiente, Via del Castro Laurenziano 7, 00161 Roma

E' noto come, all'aumentare dell'invecchiamento di un reperto cartaceo, la cellulosa in esso contenuta risulti via via sempre più ossidata, abbiamo verificato la possibilità di costruire curve che risultino funzione dell'invecchiamento di reperti celluloseici, cartacei, o lignei. In pratica è proseguita la ricerca da noi condotta negli ultimi anni, volta ad identificare eventuali correlazioni tra il degrado della cellulosa stessa e parametri chimico-fisici che permettano di evidenziarlo. Recentemente a questo scopo sono state da noi utilizzate tecniche diverse: enzimatiche, elettrochimiche e termoanalitiche [1]. In questa comunicazione sono riportati gli ultimi sviluppi ottenuti, a questo riguardo, mediante termogravimetria (TG e DTG) e calorimetria differenziale a scansione (DSC), applicate allo studio di campioni di carta extra strong con diversi tempi di invecchiamento artificiale. Nelle nostre più recenti ricerche in proposito [1], tra i diversi indici considerati, i valori delle energie di attivazione ( $E_a$ ) sono sembrati essere quelli più promettenti ai fini della costruzione delle suddette curve. In questo studio sono stati confrontati i risultati ottenuti applicando tre diversi metodi per il calcolo delle  $E_a$  del processo di degradazione termica ossidativa della cellulosa contenuta nei reperti cartacei considerati. In particolare sono stati applicati tre metodi non isotermi: differenziale di Arrhenius, integrale di Satava e infine il metodo di Wyden e Widmann. In pratica sono stati confrontati gli andamenti delle curve ottenute riportando i valori delle  $E_a$ , calcolate con ognuno di questi metodi, in funzione della durata del processo di invecchiamento del campione. Gli andamenti ottenuti non sono risultati del tutto monotoni: è comunque evidente una discreta correlazione tra gli andamenti ottenuti con i metodi di Arrhenius e Satava ed in parte anche con quello di Widen e Widman. Una certa difficoltà sembra esserci soprattutto per il caso della carta non invecchiata, il cui punto rappresentativo nei trend ottenuti risulta quasi sempre anomalo. Non è ancora ben chiaro quanto ciò dipenda dal tipo di elaborazione matematica caratteristica del metodo impiegato e quanto invece da una reale diversità delle caratteristiche chimico fisiche della cellulosa del campione di carta non invecchiato, rispetto ai campioni invecchiati. I dati elaborati sono stati essenzialmente quelli termogravimetrici, anche se, si è cercato per la prima volta di utilizzare i valori entalpici ottenuti mediante DSC. Certamente i risultati ottenuti sono ancora interlocutori, per poter considerare le curve ottenute, partendo da dati trovati per mezzo di questi metodi termoanalitici, come un modello del tutto valido, che possa condurre alla costruzione di vere e proprie curve archeometriche. Essi risultano comunque promettenti e incoraggiano la prosecuzione di questo tipo di ricerche.

1. L. Campanella, G. Favero, F. Rodante, M. Tomassetti, S. Vecchio, *Ann. Chim.*, **2003**, 93, 897-907.

## Applicazione di tecniche analitiche per l'indagine archeometrica di malte storiche

*C. Corti\**, *C. Conti<sup>†</sup>*, *B. Giussani\**, *L. Rampazzi\**, *S. Roncoroni\**

\*Dipartimento di Scienze Chimiche e Ambientali, Università degli Studi dell'Insubria, Via Valleggio 11, 22100 Como, [cristina.corti@uninsubria.it](mailto:cristina.corti@uninsubria.it)

<sup>†</sup>CNR ICVBC, Area della Ricerca di Milano, Via Cozzi 53, 20130 Milano

Le indagini archeometriche permettono di collaborare alla ricostruzione della storia di reperti archeologici, mediante l'utilizzo di diverse tecniche analitiche complementari. Per esempio, possono contribuire a fornire risposte a domande riguardanti la provenienza delle materie prime utilizzate, la classificazione di reperti, il chiarimento delle varie fasi costruttive di un sito. I dati ottenuti tramite queste tecniche sono solitamente di natura multivariata e, di conseguenza, devono essere trattati mediante tecniche chemiometriche.

Nel presente lavoro sono illustrati diversi casi studio affrontati recentemente dagli Autori e riguardanti principalmente malte storiche, ampiamente impiegate come materiale da costruzione fin dall'antichità.

Nel primo caso studio è stato affrontato lo studio di campioni provenienti da un *Castrum* altomedioevale (prima metà del VI secolo d.C.) situato a Laino Intelvi (CO). Analizzandone le differenze stilistiche, gli archeologi del Museo Civico di Como hanno ipotizzato differenti fasi di costruzione dell'insediamento. Lo scopo del lavoro sperimentale è stato il tentativo di trovare conferme a questa ipotesi tramite la caratterizzazione della fase legante. I campioni sono stati analizzati mediante FTIR, XRD e DTG per la determinazione dei composti maggioritari e ICP-MS per la determinazione di elementi in traccia e rapporti isotopici. I dati ottenuti sono poi stati trattati chemiometricamente mediante l'analisi delle componenti principali, che ha sostanzialmente confermato l'ordine cronologico suggerito dagli archeologi.

Il secondo caso studio ha visto l'analisi di campioni provenienti dall'arsenale di Amalfi, unico esempio di arsenale medievale (XI secolo d.C.) ancora esistente in Italia. I campioni, costituiti da malte di allettamento della muratura e dei pilastri, sono stati prelevati in occasione di un recente intervento di conservazione. La campagna analitica ha permesso di determinare le materie prime utilizzate, la tecnologia di produzione ed i prodotti di degrado, tramite l'utilizzo di varie tecniche complementari tra di loro, in particolare osservazione delle sezioni sottili, XRD, FTIR (sia sulle polveri, sia sulle componenti estratte in diversi solventi organici) e DTG. Sono state definite le frazioni legante ed aggregato e la componente organica, presumibilmente aggiunta come additivo. Oltre alla formulazione di ipotesi sulla tecnologia di produzione, è stata eseguita un'analisi multivariata dei risultati nel tentativo di classificare i campioni e ricostruire le fasi di edificazione dell'edificio.

Infine, sono attualmente in corso indagini analitiche su campioni di malte provenienti dal Castello del Baradello di Como (XII secolo d.C.). I campioni sono stati prelevati in occasione dell'intervento di restauro ancora in corso e sono già stati sottoposti ad analisi mediante FTIR e XRD.

## **Analisi colorimetrica su manufatti lignei policromi**

*T. Cerchiara*, \**M. Venneri*, §*G. Chidichimo*\*, *S. Ruffolo*†, *C. Gattuso*†

\*Dipartimento di Chimica, Università della Calabria

§DIARCO S.r.l., Dip. Chimica, Università della Calabria

†Dipartimento Scienze della Terra, Università della Calabria

L'interesse per il colore e la colorimetria nei Beni Culturali ha preso piede solo negli ultimi vent'anni. In realtà, già nel 1950 l'Istituto Centrale del Restauro iniziò studi sulla misurazione del colore nei dipinti, ma le difficoltà strumentali rallentarono la ricerca (1). Le nuove conoscenze scientifiche acquisite hanno permesso di applicare la colorimetria per lo studio dell'invecchiamento dei pigmenti, dei leganti e per la scelta dei materiali con cui effettuare l'eventuale restauro.

Nel nostro studio, la colorimetria è stata utilizzata per valutare la stabilità degli strati pittorici di manufatti lignei sottoposti a diversi trattamenti (irraggiamento a microonde e trattamento ipobarico), che rappresentano nuove tecniche per il mantenimento e la conservazione dei manufatti dal degrado biotico.

La differenza tra le coordinate cromatiche dei campioni sottoposti ai diversi trattamenti è stata misurata mediante il Delta E ( $\Delta E$ ). Per tutti i campioni, il  $\Delta E$  calcolato è risultato essere minore di tre. Ciò significa che lo strato pittorico dei campioni, sottoposti ai diversi trattamenti, non ha subito variazioni cromatiche percepibili dall'occhio umano. Le piccole variazioni cromatiche osservate ( $1 < \Delta E < 2$ ) sono da attribuire al fatto che le misure colorimetriche sono state eseguite subito dopo la stesura dei film pittorici e che quindi i trattamenti hanno soltanto accelerato il processo di invecchiamento, il quale sarebbe avvenuto in modo naturale in tempi più lunghi.

1. M. Cordaro, U. Santamaria *Colorimetria e beni culturali* 2000

## Condizioni sanitarie nel settore alimentare: controllo della contaminazione microbica

*P. Caputo\**, *E. Ferri\**, *G. Guarnieri†*, *F. Greci†*, *G. Lasì‡*, *S. Gozzi#*, *F. Milesi§*, *S. Girotti\**

\*Dipartimento di Scienze dei Metalli, Elettrochimica e Tecniche Chimiche, Università di Bologna, Via San Donato 15, 40127 Bologna, Italia.

†Labo-Scientifica s.r.l., via Borsari 23/A, 43100 Parma, Italia

‡Granarolo S.p.A., via Cariano 27/2, 40127 Bologna, Italia

#Camst S.C.r.l. via Tosarelli 318, 40050 Villanova di Castenaso (BO), Italia

§JohnsonDiversey, via Meucci 40, 20128 Milano, Italia

Il monitoraggio della contaminazione microbica delle superfici e dell'aria è di fondamentale importanza in tutte le situazioni in cui una non ottimale condizione sanitaria può portare alla diffusione di malattie, infezione o alla contaminazione dei prodotti alimentari. Questi controlli sono importanti e necessari per verificare le procedure di pulizia che solitamente sono applicate in numerosi luoghi tra cui mense aziendali e industrie alimentari (1). Il controllo della contaminazione microbica delle superfici è una delle principali attività comprese in questi protocolli. Un campione rappresentativo deve essere raccolto in un'area con superficie di 100 cm<sup>2</sup>. Se si effettua la ricerca di agenti patogeni la zona può essere più grande (idealmente 0,5-1 m<sup>2</sup>) (2).

In questo studio sono stati oggetto di ispezioni la filiera alta qualità da Granarolo e la mensa aziendale della stessa filiera gestita da Camst. Sono stati impiegati i classici metodi microbiologici e il test rapido bioluminescente con lo scopo di confrontare i risultati e per poter utilizzare un test rapido che consentisse agli operatori di poter verificare in tempi reali, e non dopo giorni, la correttezza del lavoro di sanificazione svolto. L'analisi bioluminescente è basata sulla determinazione dell'ATP estratto dalle cellule e rivelato grazie al sistema luciferina-luciferasi (3, 4), il dispositivo portatile permette di rivelare in meno di 5 min la concentrazione di ATP sulla superficie, indicando il livello di igiene in maniera immediata. Le piastre RODAC utilizzate sono di due tipi: non-selettive con solo Agar per la conta batterica totale (CFU) e con Cloramfenicolo per rivelare la presenza di muffe e lieviti. I risultati ottenuti hanno permesso di mettere in relazione il metodo classico con il metodo rapido, indicando quest'ultimo come ottimo strumento di rivelazione rapido e sicuro. I dati hanno dimostrato che un buon trattamento sanitario alla fine dei lavori consente il mantenimento della igiene perfino durante tutto il fine settimana, e con il metodo rapido è stato possibile evidenziare alcune criticità, subito eliminate con una sanificazione più accurata.

1. European community law number 50; 2004/9/CE and 2004/10/CE **2004**.
2. U.S. Department of Health and Human Services F. and D. A., *HACCP Guidelines* **2006**.
3. S. Girotti, E.N. Ferri, L. Bolelli, G. Sermasi, F. Fini, A.M. Garcia Campana, *In Chem. in Anal. Ch.* **2001**, 247-284;.
4. S. Girotti, R. Badiello, S. Rossi, L. Bolelli, M.D. Luque de Castro. *Annals of Chemistry* **2003**, 93 (5-6), 571 – 581.

## **Residue analysis of cortisonics in bovine milk by LC tandem MS.**

*A. Gentili, F. Caretti, L. Mainero Rocca, A. Ambrosi, D. Perret, S. Marchese, G. D'Ascenzo*

Dipartimento di Chimica, Università “La Sapienza” di Roma, Piazzale Aldo Moro n°5, P.O. Box 34, Posta 62, 00185 Roma, Italy

A new method of analysis, based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry, was developed for the simultaneous determination of twelve steroidal anti-inflammatory drugs in cow milk. This analytical method was validated according to the European Commission Decision 2002/657/EC.

Analytes were separated by ion-suppression reversed-phase liquid chromatography, due to weakly acidic nature of the selected cortisonics.

Dexamethasone tetradeuterated was chosen as internal standard.

Detection was in positive ion mode, using a high flow electrospray interface (TurboIonSpray). Two Multi Reaction Monitoring (MRM) transitions each analyte were selected.

Analytes' recovery in milk was made up of two steps: 1) sample deproteinization by trifluoroacetic acid; 2) solid phase extraction (SPE) by means of C18 as adsorbent and methanol as eluent.

Recoveries were  $\geq 70\%$  with relative standard deviations minor than 10%.

Matrix effect has become unimportant owing to the efficacy of the extraction procedure in interfering substances removal and to a suitable internal standard. In order to evaluate matrix effect, calibration curves in solvent were compared with calibration curves obtained by blank extracts spiked with analytes.

Method limits were evaluated on the quantifier transition (less intense), according to the European Commission Decision 2002/657/EC for decision limit ( $CC\alpha$ ) and detection capability ( $CC\beta$ ) assessment.

Monitoring results on different fresh whole milk brands, have shown in some cases a suspected positivity. Hydrocortisone and Cortisone Acetate were found in these samples at levels between  $CC\alpha$  and  $CC\beta$ .

This LC-MS/MS study allowed to observe Triamcinolone transformation during the evaporation step, that could explain low recovery data found in literature.

## Ottimizzazione di un metodo RP-HPLC per isolare, identificare e quantificare le furanocumarine presenti in matrici naturali

*M. Cambria\**, *M. Russo\**, *C. Carnovale\**, *A. Piperno\**, *P. Dugo†*, *L. Mondello\**

\* Dipartimento Farmaco-chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina, Italia

† Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Scienze MM.FF.NN., Università degli studi di Messina, Salita Sperone, 98166, Messina, Italia

Le furanocumarine (psoraleni) costituiscono una classe di composti naturali presenti negli estratti di piante provenienti da varie specie quali Rutaceae, Umbelliferae, Solanaceae, molto usate come ingredienti negli alimenti e nei profumi. Le furanocumarine sono contenute nella frazione non-volatile degli oli essenziali estratti a freddo (cold-pressed) insieme ad altri composti ossigenati a nucleo eterociclico (cumarine e polimetossiflavoni) [1]. La composizione quali-quantitativa del residuo dell'olio essenziale riveste un ruolo importante sia nell'identificazione che nel controllo della qualità e della genuinità dei vari oli [2]. Le attività farmacologiche delle furanocumarine sono abbastanza note e largamente studiate: vengono impiegate come stimolanti della repigmentazione in casi di psoriasi, vitiligine ed altre malattie della pelle [2-4].

Più recentemente, particolare interesse è stato rivolto alla foto-tossicità degli psoraleni. È stato dimostrato che in presenza della luce UV questi composti interferiscono con il DNA formando dei ponti fra coppie di basi; in particolare il bergaptene (5-metossi-psoralene) si ritiene sia potenzialmente foto-tossico, foto-mutagenico e foto-carcinogeno [5]. Per queste ragioni recentemente "l'European Cosmetic Directive 76/768/EEC" ha modificato, introducendo una limitazione, l'uso e la presenza delle furanocumarine foto-sensibili nei prodotti cosmetici [3].

Data la difficoltà nel reperire in commercio le furanocumarine come sostanze standard, queste sono state isolate direttamente dal residuo all'evaporazione degli oli essenziali agrumari mediante cromatografia liquida a bassa pressione LPLC (Versaflash Supelco®), purificate tramite HPLC preparativa ed identificate mediante NMR, MS e RP-HPLC-PDA. Ciascun composto puro è stato utilizzato per sviluppare un metodo HPLC per l'identificazione ed il dosaggio degli stessi in oli essenziali agrumari e prodotti alimentari potenzialmente contenenti furanocumarine.

*Ringraziamenti: Il Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica per il finanziamento del progetto PNR 2005-2007 n. RBIP06SXMR "Sviluppo di metodologie innovative per l'analisi di prodotti agroalimentari". Shimadzu e Sigma-Aldrich/Supelco per il loro continuo supporto.*

1. P. Dugo, D. McHale, In: *Citrus The genus citrus*, ed. G. Dugo, A. Di Giacomo, Taylor and Francis, London, **2002**.
2. P. Dugo, L. Mondello, I. Stagno d'Alcontres, A. Cavazza, G. Dugo. *Perfumer & Flavorist*, **1997**, 22, 25-30.
3. Commission Directive 95/34/EC (SCCNFP/0392/00 of September 25, 2000).
4. R. D. H. Murray, J. Mendez, S. A. Brown, Yohn Wiley and Sons, Chichester, UK **1982**.
5. C.A., Erdelmeier, B. Meier, O. Sticher, *J. Chromatogr.* **1985**, 346, 456-460.

## Qualità e sicurezza di prodotti a denominazione d'origine

M. Cocchi, C. Durante, M. Grandi, M. Li Vigni, S. Manzini, A. Marchetti, S. Sighinolfi, L. Tassi, S. Totaro

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Chimica,  
via Campi 183, Modena

La tutela della denominazione d'origine e il rispetto di precisi disciplinari di produzione sono volti a garantire ai consumatori qualità e sicurezza dei prodotti alimentari, nonché diventano di fondamentale importanza quando ci si rivolge a prodotti insigniti con marchi di pregio e di qualità. In tale contesto l'Aceto Balsamico Tradizionale di Modena (ABTM) rappresenta un caso di studio estremamente interessante per le sue peculiarità derivanti dalla filiera produttiva caratteristica. Questo prodotto alimentare ha ottenuto nel 2000 la Denominazione di Origine Protetta (DOP), che prevede che la sua produzione sia codificata da un rispettivo Disciplinare di Produzione <sup>[1]</sup>. L'unica materia prima consentita per la produzione di ABTM è il mosto cotto ridotto, ottenuto dal riscaldamento del succo d'uva: durante tale processo si istaurano una serie di variazioni nella composizione del mosto, tra cui la produzione di molecole appartenenti alla famiglia dei furfurali<sup>[2]</sup>. I furfurali sono stati recentemente indagati per un possibile effetto genotossico, tanto più che l'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) ha posto, da un lato, dei limiti tutelativi per l'assunzione di tali sostanze<sup>[3]</sup>, dall'altro, ha attivato procedure di raccolta dati e di attivazione di progetti di ricerca per la determinazione di queste specie negli alimenti con particolare riferimento ai prodotti per l'infanzia. Se da un punto di vista la presenza dei furfurali è fondamentale per garantire all'ABTM il profumo ed il sapore tipici, dall'altro deve essere monitorata perché tali sostanze, a concentrazioni elevate, risultano nocive per gli organismi viventi e, nel caso specifico, per batteri e lieviti responsabili dei processi di fermentazione alcolica e bio-ossidazione acetica, indispensabili per ottenere il balsamico tradizionale <sup>[4]</sup>.

Dato che i furfurali si formano durante il processo di riscaldamento del mosto e subiscono alcune variazioni di carattere sia qualitativo che quantitativo nelle fasi successive di maturazione del prodotto, è stata effettuata un'indagine dettagliata, dalle fasi iniziali della produzione fino al prodotto finito, monitorando l'intera filiera di produzione dell'Aceto Balsamico Tradizionale di Modena, sia valutando i cambiamenti durante la fase di cottura del succo d'uva per ottenere mosto cotto sia durante il processo di invecchiamento e concentrazione della matrice <sup>[5]</sup>.

I risultati preliminari di questa ricerca hanno già permesso di introdurre alcune migliorie nel processo produttivo iniziale, sempre nel pieno rispetto del Disciplinare di Produzione, in modo da contribuire a garantire al consumatore un prodotto maggiormente sicuro e qualitativamente elevato, non alterando la tradizione secolare che lo caratterizza.

1. Gazzetta Ufficiale Italiana, n° 124, 30 Maggio 2000.
2. M. Cocchi, G. Ferrari, D. Manzini, A. Marchetta, S. Sighinolfi *J. Food Eng.* **2007**, 79, 1438-1444.
3. Commission Regulation (EC) No 1565/2000 of 18 July 2000, Adopted on 27 April 2005, *The EFSA Journal* (2005) 215, 1-73.
4. M.J. Taherzadeh, L. Gustafsson, C. Niklasson, G. Lidèn *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2000**, 53, 701-708.
5. Marchetti, M. Cocchi, R. Consonni, C. Durante, M. Grandi, S. Manzini, S. Sighinolfi *J. Agric. Food Chem.*, in press.

# Studio della risposta del rivelatore amperometrico pulsato in funzione del grado di polimerizzazione di fruttani impiegati come prebiotici in matrici alimentari

C. Borromei, A. Cavazza, C. Corradini, C. Merusi

Dipartimento di Chimica Generale e Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica – Università di Parma, Parco Area delle Scienze, Parma

I fruttani sono definiti come una miscela polidispersa di carboidrati costituiti da molecole di fruttosio legati da legami  $\beta(2\rightarrow1)$  e si suddividono in base al grado di polimerizzazione (Dp) in fruttooligosaccaridi (Dp 3-10) ed inuline (Dp fino a 80)<sup>[1]</sup>. La struttura chimica dei fruttani può essere determinata mediante tecniche cromatografiche quali la cromatografia ad alte prestazioni a scambio anionico forte con rivelatore amperometrico pulsato (HPAEC-PED), una tecnica selettiva e sensibile nella determinazione quali e quantitativa della frazione oligo e polisaccaridica di inuline a diverso grado di polimerizzazione. La mancanza di standard commerciali crea la necessità di identificare le singole frazioni oligosaccaridiche dei fruttani mediante tecniche di spettrometria di massa. Nel presente lavoro sono stati sviluppati e validati<sup>[2]</sup> metodi HPAEC-PED per l'analisi di inuline a diverso grado di polimerizzazione. I profili cromatografici ottenuti sono stati confrontati con gli spettri risultanti dall'analisi delle medesime fibre in spettrometria di massa, impiegando analizzatori di massa quali quadrupolo-tempo di volo (Q-TOF), MALDI, e triplo quadrupolo (QqQ). Grazie all'ausilio di tali tecniche è stato possibile definire il grado di polimerizzazione delle inuline analizzate. Per la quantificazione dei fruttani, impiegati come prebiotici nella formulazione di alimenti funzionali o naturalmente presenti in vegetali quali cicoria, cipolla, carciofi, si è reso necessario effettuare uno studio preliminare su come varia la risposta del rivelatore amperometrico pulsato in funzione del grado di polimerizzazione. In letteratura viene mostrato il comportamento del rivelatore PED al variare del Dp di alcuni destrani: i monomeri a più alto peso molecolare vengono sottostimati<sup>[3]</sup>. Mediante la costruzione di rette di taratura per ogni monomero dell'inulina, abbiamo notato come questo comportamento si ripeta anche per i fruttani: passando dalla frazione oligosaccaridica a quella a più alto peso molecolare si ha una diminuzione progressiva del coefficiente angolare. Inoltre è stato quantificato il contenuto dell'1-kestosio, trisaccaride capostipite dei fruttani, nei campioni di inulina, costruendo una retta di taratura su standard, in quanto è disponibile in commercio. Esiste una correlazione lineare tra la concentrazione dell'1-kestosio e la concentrazione di fibra a diverse concentrazioni (range 50-450 mg/l); per tale motivo è possibile quantificare l'inulina mediante la retta di taratura dell'1-kestosio. Per confermare l'attendibilità di tale metodo quantitativo è stato calcolato il fattore di risposta per ogni monomero rapportando l'area di ogni picco a quella dell'1-kestosio ed è stato verificato che tale rapporto rimanesse invariato a concentrazioni diverse di fibra.

<sup>[1]</sup> M.K. Ernst, M.K., N.J.Chatterton, P.A.Harrison, G.Matitschka, G., *J. Plant Physiol.*, 1998, **153**, 53-60

<sup>[2]</sup> The Fitness for Purpose of Analytical Method Validation and Related Topics, *Eurachem Guide*, 1998, <http://eurachem.ul.pt>

<sup>[3]</sup> F.Abballe, M.Topazzini, C. Campa, F.Uggeri, S. Paletti, *J. Chromatogr.*, 2007, **1149**, 38-45

## Determinazione di polifenoli in bacche di uva da tavola mediante spettrometria di massa

O. Del Zotti, P. Foglia, P. Giansanti, A. Laganà

Dipartimento di Chimica, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro, 5 - 00185 Roma  
[patrizia.foglia@uniroma1.it](mailto:patrizia.foglia@uniroma1.it)

Nell'ambito della produzione ortofrutticola è noto che l'uva è un'ottima fonte di molecole biofunzionali quali i polifenoli, metaboliti secondari delle piante noti per le loro riconosciute proprietà antiossidanti antitumorali, antimutagene, cardioprotettive, antimicrobiche e antivirali<sup>1,2</sup>. Fra questi, maggiore interesse è rivolto ai flavonoidi e al resveratrolo, un polifenolo della classe degli stilbeni, nelle varie forme libere e coniugate.

In questo studio è stato sviluppato un metodo analitico multianalitico, accurato e sensibile, basato sulla cromatografia liquida-spettrometria di massa per la separazione, caratterizzazione e quantificazione di specie polifenoliche e resveratrolo in bacche di uva da tavola. Allo scopo di tracciare un profilo completo delle varie forme polifenoliche presenti nelle bacche è stata utilizzata una metodica che prevede un'estrazione selettiva delle specie di interesse con una soluzione di MeOH:H<sub>2</sub>O:70:30, 1% HCOOH mediante sonicazione seguita dall'analisi diretta dell'estratto vegetale, senza alcuno step preventivo di deconiugazione e/o purificazione. Per ottenere in un'unica corsa cromatografica il maggior numero di informazioni analitiche, la cromatografia è stata seguita in ESI-MS nella modalità *full scan* in ionizzazione positiva.

Il procedimento è rapido ed efficace e permette, con il dovuto compromesso in termini di sensibilità e separazione, di determinare simultaneamente più di 50 composti tra flavanoli, flavonoli, flavoni, antociani e stilbeni. Per gli analiti di cui si disponeva dello standard è stato possibile valutare il metodo ottenendo recuperi sempre superiori all'85%, indipendentemente dal tipo di matrice.

Campioni di uva da tavola a bacca bianca (Italia), a bacca nera (Michele Palieri) e rossa (Red Globe), coltivate in vigneti sperimentali nel territorio dell'Italia meridionale, sono stati analizzati con la metodica descritta effettuando la caratterizzazione quali/quantitativa di alcuni composti polifenolici nelle varie parti della bacca (buccia e semi). Nelle bucce sono stati identificati molti analiti appartenenti alla classe dei flavanoli, flavonoli, antociani e stilbeni presenti come monomeri, dimeri, trimeri, tetrameri e/o le loro forme glicosilate. In particolare per la varietà di uva Italia sono stati trovati i flavanoli e i flavonoli. Nelle bucce delle specie di uva rossa e nera, invece, sono stati identificati anche gli antociani e il resveratrolo con i suoi derivati. L'analisi dei semi ha evidenziato la presenza della sola classe dei flavonoli.

Mediante trattazione statistica dei dati ricavati è stata inoltre valutata l'eventuale correlazione tra diverse cultivar, condizioni di maturazione e conservazione delle bacche e contenuto delle molecole in esame, fornendo anche indicazioni relative all'influenza dei fattori pedoclimatici, colturali, del tempo di raccolta e di conservazione che possono o meno influenzare il contenuto di sostanze nutraceutiche oggetto di studio.

*Si ringrazia il Mipaaf (progetto "VANSUT") per aver cofinanziato la ricerca.*

Rice-Evans, C. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 797-807.

Knekt, P.; Järvinen, R.; Reunanen, A.; Maatela J. *Brit. Med. J.* **1996**, *312*, 478-481.

AL\_P41

## Analisi dell'olio essenziale di cedro estratto con tre differenti tecniche

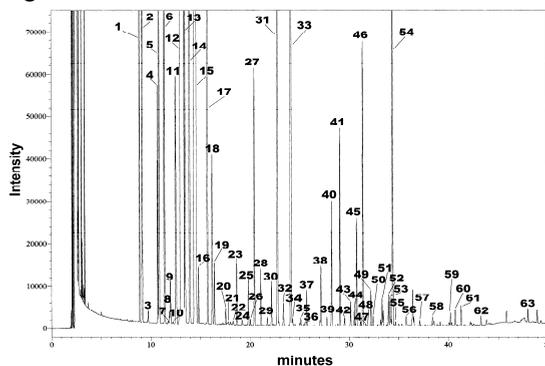
B. Gabriele, \* A. Fazio, \* P. Dugo, † R. Costa‡, L. Mondello‡

\* Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università della Calabria, 87036 Arcavacata di Rende (Cosenza), [a.fazio@unical.it](mailto:a.fazio@unical.it)

† Dipartimento di Scienze degli Alimenti e dell'Ambiente, Università di Messina, salita Sperone 31, 98166 Messina

‡ Dipartimento Farmaco-Chimico, Università di Messina, Viale Annunziata, 98168 Messina

In questa comunicazione viene riportata la composizione qualitativa e quantitativa della frazione volatile e di quella eterociclica dell'olio essenziale di cedro (*Diamante citron* L. cv. Diamante). Sono stati selezionati tre tipi di frutti: cedri verdi piccoli, cedri verdi grandi e cedri diventati gialli dopo un mese dalla raccolta. Gli oli essenziali sono stati estratti utilizzando tre differenti tecniche ed analizzati mediante HRGC-FID, HRGC-MS, RP-HPLC e HRCG enantioselettiva. I campioni analizzati differiscono nella composizione quantitativa, ma mostrano lo stesso profilo qualitativo riportato nella seguente figura.



Sono stati identificati 63 componenti sulla base degli spettri di massa, dei valori degli indici di ritenzione lineare<sup>1</sup> e dei tempi di ritenzione di standard di riferimento. La determinazione quantitativa è stata condotta usando una curva di calibrazione ottenuta con il metodo dello standard esterno. Da un punto di vista quantitativo il migliore metodo di estrazione è quello dell'abrasione della buccia, dal momento che gli oli isolati con questa tecnica sono più ricchi in ogni componente.

L'analisi gascromatografica enantioselettiva ha consentito la determinazione della distribuzione enantiomerica di 5 composti chirali evidenziando la prevalenza di 4 isomeri destrogiri.

L'analisi HPLC della frazione eterociclica degli oli ha rivelato la presenza di 4 componenti: 2 cumarine, erniarina e citroptene e 2 psoraleni, ossipeucedanina e biacangelicolo. Il principale componente negli oli estratti dai frutti verdi è l'ossipeucedanina, mentre il citroptene rappresenta il più abbondante composto ossigenato degli oli ottenuti dal cedro giallo.

1. Mondello, L.; Costa, R.; Tranchida, P.Q.; Dugo, P.; Lo Presti, M.; Festa, S.; Fazio, A.; Dugo, G. *J. Sep. Sci.* **2005**, *28*, 1101-1109.

## Tracciabilità dell'olio extra-vergine di oliva pugliese mediante analisi HS-SPME-GC-MS della frazione volatile

*A. Damascelli, F. Palmisano, C. Zambonin*

*Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari, via Orabona 4, 70126 Bari*

La legislazione europea, per tutelare e valorizzare le produzioni e differenziare i prodotti italiani da quelli stranieri, riconosce la **Denominazione di Origine Protetta (D.O.P.)** e affida agli organi locali la funzione di elaborare dei Disciplinari che, in accordo con le norme europee, possano stabilire i parametri delle nuove produzioni a tutela dei produttori e dei consumatori. In Puglia il riconoscimento D.O.P. è stato dato a quattro tipi di oli prodotti in altrettante zone della regione: **Dauno, Terra di Bari, Colline di Brindisi e Terra D'Otranto**. Il disciplinare di produzione per il D.O.P. "Terra di Bari" affida notevole importanza alla valutazione soggettiva delle caratteristiche organolettiche: colore, sapore e odore.

L'obiettivo del lavoro è stato sviluppare un metodo analitico che permettesse l'assegnazione della denominazione di origine protetta in modo oggettivo. Questo è stato realizzato mediante l'indagine della frazione volatile, campionata mediante **microestrazione in fase solida dello spazio di testa (HS-SPME)** ed analizzata mediante gascromatografia interfacciata a spettrometria di massa in modo da descrivere le caratteristiche specifiche di ogni olio affiancando il Panel Test. È possibile conseguire tale obiettivo perché la composizione della componente volatile, costituita da aldeidi, chetoni, alcoli, esteri, terpeni ed idrocarburi, varia in funzione di molteplici fattori: la *cultivar*, il clima, il grado di maturazione del frutto e l'area geografica<sup>1</sup>. La procedura analitica sviluppata possiede inoltre un ulteriore notevole vantaggio: riuscire a identificare *marker* specifici di determinate aree di produzione (come ad esempio i composti terpenici) in grado di comprovare la provenienza geografica del prodotto garantendone la tracciabilità. Infine, questo metodo potrebbe essere utile per differenziare oli italiani da oli stranieri e per l'individuazione di eventuali adulterazioni alimentari.

In particolare è stato individuato l' $\alpha$ -Copaene, un sesquiterpene, come *marker* dell'olio "Terra di Bari" in quanto distintivo degli oli italiani ma presente in elevate quantità in quello pugliese<sup>2</sup>. L'olio D.O.P. "Terra di Bari" si suddivide, inoltre, in tre sottocategorie: "Bitonto", "Castel del Monte" e "Murgia dei Trulli e delle Grotte", che possono essere discriminate dal differente rapporto tra l' $\alpha$ -Muurolene e l' $\alpha$ -Farnese. Tutto ciò è possibile in quanto la concentrazione di tali composti è condizionata dalla temperatura, dalle precipitazioni, dalla presenza di erbivori e microrganismi patogeni (i quali ne promuovono la biosintesi), caratteristiche peculiari di una determinata area geografica. Risultano, inoltre, poco soggetti ad alterazioni nel corso del processo di produzione. Per questi motivi i terpeni possono essere considerati adeguati *marker* molecolari ai fini della tracciabilità geografica del prodotto.

1. Angerosa, F.; Servili, M.; Selvaggi, R.; Taticchi, A.; Esposto, S.; Montedoro G. *J. Chrom. A* **2004**, 1054, 17-31.
2. Zunin, P.; Boggia, R.; Salvadeo, P.; Evangelisti, F.; *J. Chrom. A* **2005** 1089, 243-249.

## **Latte di bufala autoarricchito di lattoferrina mediante processi separativi di membrana.**

*L. Campanella, R. Grossi, E. Martini, M. Pintore*

Dipartimento di Chimica - Università degli Studi "La Sapienza"; P.le Aldo Moro, 5- 00185-Roma

Il latte bovino contiene numerose proteine minori con diverse proprietà fisiologiche legate a fattori di crescita e antimicrobici dal significativo potere nutrizionale più delle proteine maggiormente presenti nel latte. Molte di queste proteine bioattive minori sono presenti nelle frazioni di siero dei mammiferi, concentrazioni elevate di queste proteine si possono riscontrare nel colostro a conferma della loro importanza nella salute del primo stato prenatale. Una di queste proteine a cui viene dedicata una particolare attenzione per l'attività multifunzionale che svolge nell'organismo umano è la lattoferrina. Oltre al compito di regolatore del ferro a livello gastro-intestinale la lattoferrina gode di capacità antiossidante infatti è in grado di inibire lo sviluppo di adenocarcinomi al colon in quanto riduce in maniera significativa il numero e la grandezza dei focolai criptici, così come può intervenire nei processi antiinfiammatori e modificare alcuni componenti nel sistema immunitario attraverso interazioni con il sistema monocita/macrofago (1).

Secondo un'attenta ricerca sul latte di bufala volta allo studio delle frazioni proteiche sono state riscontrate in questa matrice due peculiarità di assoluto rilievo: il latte di bufala non stimola fenomeni d'intolleranza alimentare, come accade per quello bovino, e si evidenzia in questa matrice una forte presenza di lattoferrina (2, 3).

La separazione della proteina può essere finalizzata sia al suo isolamento e conseguente acquisizione come tale sia ad un suo arricchimento in matrici che già la contengono.

In questo lavoro è stata valutata la possibilità di realizzare un processo di separazione della lattoferrina mediante separazione su membrana a partire da matrici alimentari che la contengono e di caratterizzare il prodotto ottenuto per separazioni.

1. M.A. Nawar, *Egypt. Soc. J. Sci* **2006**, 34(2), 133-138.
2. G.A. Mahran, A.A. Asker, A.S. Akila, J.B. Ali, *Egypt. J. Dairy Sci* **2007**, 35(1), 21-29.
3. I.A. Abd El-Gawad, E.M. El-Sayed, A.M. Abd El-Salam, *Egypt. J. Dairy Sci* **1996**, 24(2), 297-308.

## Analisi enantioselettiva mediante MEKC di campioni di tè di diversa provenienza

*S. Furlanetto,<sup>1</sup> S. Lanteri,<sup>2</sup> R. Gotti,<sup>3</sup> S. Pinzauti<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Università di Firenze, Dip. Sci. Farmaceutiche, Via Ugo Schiff 6, 50019 Sesto Fiorentino

<sup>2</sup>Università di Genova, Dip. Chim. e Tecnol. Farm. ed Alim., Via B. Salerno s/n 16147 Genova

<sup>3</sup>Università di Bologna, Dip. Sci. Farmaceutiche, Via Belmeloro 6, Bologna

Le catechine presenti nel tè verde hanno un ruolo come antitumorali e nella prevenzione dei disturbi cardiovascolari ed altri disturbi degenerativi (1). L'analisi del contenuto di catechine nel tè verde, bevande e integratori alimentari a base di tè è quindi molto importante per studi epidemiologici e nutrizionali. Nel presente lavoro un metodo MEKC enantioselettivo per la determinazione simultanea di metilxantine (caffaina, teofillina e teobromina) e di catechine ( (-)-epicatechina, (-)-epicatechina gallato, (-)-epigallocatechina, (-)-epigallocatechina gallato, (-)-gallo catechina gallato) è stato applicato a diversi campioni di tè con diversa provenienza geografica. Il presente metodo permette inoltre l'enantiorisoluzione di (±)-catechina and (±)-gallo catechina rendendo possibile il dosaggio per la prima volta di (-)-gallo catechina in campioni di tè. La presenza di tale catechina è dovuta all'epimerizzazione termica della (-)-epigallocatechina per cattivo processo di fabbricazione. Lo stesso si può dire per la (-)-catechina derivante da (-)-epicatechina. Tali catechine possono essere quindi considerate indice di cattiva preparazione o scarsa conservazione dei tè analizzati. Il metodo è stato quindi applicato a 20 campioni di tè provenienti da diverse regioni di Cina e Giappone. L'analisi delle componenti principali è stata usata per visualizzare le informazioni utili contenute nei dati analitici ottenuti. Per migliorare l'interpretazione dell'informazione contenuta nel data set è stata effettuata una *varimax* rotazione dei loadings (1). E' stato possibile distinguere tè con diversa origine o diverso processo di preparazione ed è stato possibile discriminare anche il differente contenuto di (-)-epicatechina, (-)-catechina e (-)-epigallocatechina gallato, considerati fitomarkers, nei diversi campioni di tè analizzati. Tè caratterizzati da un alto contenuto di (-)-epicatechina, (-)-epigallocatechina gallato, (+)- catechina e (+)-gallo catechina, sono buoni tè; tè con alto contenuto di (-)-gallo catechina e (-)-catechina, hanno una cattiva qualità per cattiva conservazione o cattivo processo di preparazione. Il metodo analitico sviluppato può quindi essere utile per evidenziare possibili adulterazioni in campo alimentare.

1. J.V. Higdon, B. Frei, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **2003**, *43*, 89-143.
2. M.Forina, C.Armanino, S.Lanteri, R.Leari, *J.Chemometrics* **1988**, *3*, 115-125.

# Caratterizzazione della componente volatile del pomodoro mediante analisi SPME-GC-MS e trattamento chemiometrico dei dati

G. Lo Feudo,\* B. Macchione,<sup>†</sup> G. Sindona,<sup>†</sup> A. Tagarelli<sup>†</sup>

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica, Università della Calabria Via P. Bucci, Cubo 12/C 87036 Arcavacata di Rende (CS)

\* I.N.C.A. Istituto Nazionale delle Conserve Alimentari – Sede di Cosenza, Via N. Parisio, 13 – 87100 Cosenza

All'interno della famiglia delle Solanacee, il pomodoro (*Solanum lycopersicum* L.) costituisce una specie caratterizzata da un flavor unico e particolarmente complesso, dovuto principalmente alla presenza di sostanze volatili che si originano durante la maturazione del frutto. La matrice fresca risulta complessa in quanto a tali composti, già di per se instabili, si aggiungono altri composti volatili che si generano durante le fasi di lavorazione del frutto ad opera di enzimi endogeni che, in seguito alla rottura dei tessuti, vengono a contatto con i substrati.

Negli ultimi anni, numerosi lavori hanno contribuito all'identificazione delle principali molecole responsabili dell'aroma del pomodoro fresco e dei suoi derivati. I composti noti sono circa 400, tra questi si distinguono alcoli e aldeidi C6 e C9, saturi e insaturi, che sono i composti che prima si percepiscono nei pomodori freschi e che hanno origine dagli acidi grassi linoleico e linolenico nel cammino biosintetico della lipossigenasi, mentre i terpeni e i carotenoidi derivano da composti glicosidici mediante processi catalizzati dalla glicosidasi.<sup>1-2</sup>

È noto che la componente volatile della maggior parte dei prodotti di origine vegetale risulta strettamente influenzata dalle caratteristiche pedoclimatiche dell'areale di coltivazione.<sup>3</sup> Pertanto, anche il profilo aromatico del pomodoro potrebbe essere correlato con tali variabili.

Esistono già alcune metodiche ufficiali che, utilizzando diversi markers, tentano di tutelare il prodotto ed i consumatori da fraudolente attribuzioni sull'origine. La presente comunicazione rientra in questo contesto in quanto lo scopo del lavoro è stato quello di valutare la possibilità di caratterizzare la componente volatile del frutto del pomodoro e da questa tentare di risalire all'origine.

A tale scopo sono stati analizzati 10 campioni per ognuna delle differenti aree di produzione prese in considerazione (Calabria, Basilicata, Puglia, Emilia Romagna) tutti appartenenti alla stessa cultivar. La tecnica di estrazione scelta è stata la microestrazione in fase solida (SPME) seguita da analisi GC-MS. La fibra scelta è stata la Carboxen/PDMS, 85 µm, e l'acquisizione degli spettri di massa è stata effettuata in impatto elettronico.

Nella presente comunicazione verranno presentati i dati quantitativi relativi agli analiti maggiormente significativi per ciascun campione e le eventuali differenze tra gli areali di coltivazione ottenute mediante analisi statistica multivariata.

<sup>1</sup> K. Markovic, N. Vahcic, K. Kovacevic Ganic, M. Banovic *Flavour Fragr. J.* **2007**, *22*, 395-400.

<sup>2</sup> R. G. Buttery, R. Teranishi, L. C. Ling, R. A. Flath, D. J. Stern *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36*, 1247-1250.

<sup>3</sup> B. Cavaliere, A. De Nino, F. Hayet, A. Lazez, B. Macchione, C. Moncef, E. Perri, G. Sindona, A. Tagarelli *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 1454-1462.

## Contaminazione da ocratossine A e B in birre e vini commerciali

D. Ventrice, \*D. Caponio, \*MC. Strongoli,<sup>§</sup> C. Muscoli<sup>†</sup>, A. Scalzo \*, DA. Rotiroti,<sup>§</sup> V. Mollace \*

\*Centro d'Eccellenza in Tossicologia Agroalimentare - A.R.P.A.Cal.

<sup>†</sup>Università degli Studi Magna Græcia di Catanzaro

<sup>§</sup>ISN-CNR Sede di Catanzaro

Le micotossine sono un gruppo di sostanze chimiche generate dal metabolismo secondario dei miceti, tossiche sia per l'animale che per l'uomo. Fanno parte di questa famiglia, le ocratossine prodotte da *Aspergillus ochraceus* e *Penicillium viridicatum*, queste molecole possono esplicare diverse azioni: nefrotossica, epatotossica, immunotossica, teratogena e cancerogena (1). La possibile presenza in molti alimenti costituisce motivo di crescente preoccupazione per la salute dei consumatori.

Presso i nostri laboratori, sono stati condotti degli studi circa la presenza di ocratossina A e ocratossina B, in campioni di birra e di vino facilmente reperibili sul mercato.

I campioni, opportunamente degasati, portati a pH 7.2 mediante l'aggiunta di NaOH, sono stati sottoposti ad estrazione mediante colonnine di immunoaffinità (2) contenenti anticorpi monoclonali con elevata affinità per le molecole in esame. Dopo l'adsorbimento le colonnine sono state lavate con PBS ed eluite con 1,5 ml di una soluzione (acido acetico-metanolo 2:98 v/v), seguiti da 1,5 ml di acqua distillata. Gli estratti sono stati poi analizzati mediante HPLC con rivelatore in fluorescenza.

Il metodo, che ha mostrato ottimi recuperi, si è rivelato ideale per la determinazione delle ocratossine A e B nelle matrici alimentari esaminate. La presenza di queste molecole, riscontrata in quasi tutti i campioni, è ben al di sotto dei limiti previsti dalla normativa. Comunque sarebbe opportuno mantenere alta la soglia di attenzione, continuando a monitorare la presenza di queste molecole effettuando, eventualmente, studi di tossicità cronica relativa all'assunzione degli alimenti che le contengono.

(1) HG. Kamp, G. Eisenbrand, J. Schlatter, K. Würth, C. Janzowski *Toxicology* **2005**, 206, 413-425.

(2) MW. Trucksess, CM. Weaver, CJ Oles, FS. Jr Fry, Noonan, JM. Betz, JI. Rader *JAOAC Int.* **2008**, 91, 511-523.

## Messa a punto di una lingua artificiale voltammetrica per la discriminazione di oli di oliva

P. Oliveri,<sup>†</sup> M.-A. Baldo,<sup>\*</sup> S. Daniele,<sup>\*</sup> M. Forina<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>Università di Venezia, S. Marta 2137, 30123 Venezia, email: toni@unive.it

<sup>†</sup>Università di Genova, via B. Salerno 13, 16147 Genova, email: oliveri@dictfa.unige.it

L'applicazione di tecniche chemiometriche a segnali analitici di tipo aspecifico ha recentemente trovato un crescente interesse per il riconoscimento e la discriminazione di prodotti alimentari, sulla base ad esempio della loro natura e provenienza geografica[1]. A questo proposito sono state finora impiegate numerose tecniche strumentali, basate su sensori ottici, di massa o elettrochimici, in grado di produrre segnali correlabili ai sensi umani: in tale contesto si parla perciò di occhi, nasi e lingue artificiali. Per quanto riguarda i sistemi di tipo elettrochimico, quelli più comunemente utilizzati nelle cosiddette lingue artificiali si basano su metodi potenziometrici, conduttometrici e voltammetrici. Questi ultimi, com'è noto, sono particolarmente vantaggiosi, in quanto caratterizzati da elevati livelli di selettività, sensibilità e rapporto segnale-rumore, e per la loro versatilità nelle modalità di misura. Per queste finalità, in letteratura<sup>1</sup> sono stati riportati numerosi esempi di impiego di elettrodi di dimensioni convenzionali (*i.e.* dell'ordine del millimetro), sia metallici che a pasta di grafite o chimicamente modificati. Tuttavia la maggior parte delle applicazioni riguarda matrici alimentari ad elevato contenuto di acqua, come succhi di frutta, vini, acque minerali, che offrono una conduttività sufficientemente elevata da consentire misure voltammetriche dirette. Applicazioni dirette di lingue artificiali di tipo voltammetrico in matrici caratterizzate da alta viscosità, bassa conduttività, e non in grado di solubilizzare quantità adeguate di elettroliti standard, sono invece molto rare. Alimenti quali ad esempio l'olio d'oliva e, più in generale, gli oli vegetali, sono infatti praticamente inaccessibili a misure voltammetriche, a meno di non miscelare il campione naturale con elevate quantità di solventi quali l'acetone nitrile o con acqua e tensioattivi per produrre emulsioni. Un approccio diverso recentemente proposto è stato invece l'impiego di elettrodi a pasta di carbonio modificati con il campione d'olio da analizzare<sup>2</sup>. In questo lavoro viene proposta, come nuova strategia alternativa, una lingua artificiale basata sull'uso di microelettrodi a disco di Pt, per la differenziazione di oli vegetali sulla base della loro natura o provenienza geografica mediante trattamento chemiometrico dei segnali registrati. Il metodo consiste nell'effettuare misure dirette in voltammetria ciclica nel campione d'olio, previamente miscelato con un adeguato liquido ionico (RTIL) quale elettrolita di supporto per rendere la matrice sufficientemente conduttrice. In particolare, indagini preliminari riguardo la composizione ottimale delle miscele olio/RTIL hanno evidenziato che l'aggiunta ai campioni naturali del liquido triesil(tetradecil)fosfonio decanoato (TETDP) consente di ottenere responsi CV ben definiti e significativi. Da uno studio esplorativo multivariato dei dati, effettuato mediante Analisi delle Componenti Principali (PCA)<sup>4</sup>, è stata infine valutata l'utilità dell'informazione presente nei voltammogrammi completi, considerati quali "impronte digitali" dei singoli campioni, ai fini della discriminazione tra oli diversi.

1. Ciosek, P.; Wroblewski, W.; *Analyst* **2007**, *132*, 963 -978.
2. Apetrei, C.; Rodriguez-Mendez, M.L.; de Saja, J.A. ; *Sens. Actuators B*, 2005, *111-112*, 403-409
3. Forina, M.; Lanteri, S.; Casolino C.; *Handbook of Food Analysis*, Marcel Dekker, NY, vol. 3, 2004, p.1757.

# Utilizzo di descrittori molecolari 3-D WHIM e GETAWAY nell'ambito delle Relazioni Quantitative Struttura / Eluente-Ritenzione di pesticidi in HPLC in fase inversa

A. A. D'Archivio, M. A. Maggi, P. Mazzeo, F. Ruggieri

Dipartimento di Chimica Ingegneria Chimica e Materiali, Università degli studi di L'Aquila, via Vetoio, 67010, L'Aquila

Le relazioni quantitative struttura-ritenzione (QSRR) si propongono di descrivere il comportamento cromatografico degli analiti sulla base della loro struttura. Tali metodologie sono utilizzate da oltre vent'anni con diverse finalità, quali la comprensione del meccanismo molecolare della separazione, la caratterizzazione delle fasi cromatografiche e lo sviluppo di modelli predittivi per la ritenzione [1]. Nell'ambito degli studi QSRR diversi approcci sperimentali e computazionali sono stati proposti per estrarre dalla struttura molecolare le proprietà da utilizzare come variabili indipendenti del modello (descrittori) [2]. L'approccio QSRR tradizionale considera la differenza nella struttura dei soluti l'unica fonte di variabilità del tempo di ritenzione, essendo mantenute costanti le condizioni di separazione. In questa circostanza il modello QSRR ottenuto analizzando il comportamento di un insieme rappresentativo di soluti può essere utilizzato per prevedere la ritenzione di molecole incognite nelle stesse condizioni di separazione utilizzate nella fase di calibrazione. In alcuni studi precedenti [3,4] abbiamo messo in evidenza come combinando i descrittori molecolari e le caratteristiche della fase mobile in un unico modello sia possibile descrivere adeguatamente la ritenzione cromatografica di pesticidi in HPLC in fase inversa in un ampio intervallo di condizioni di separazione. Questo approccio è stato applicato con successo sia nel caso di pesticidi neutri, il cui comportamento cromatografico è influenzato dalla sola composizione di fase mobile (la percentuale di modificante organico) [3], sia nel caso di pesticidi acidi, la cui ritenzione dipende sia dalla composizione che dall'acidità della fase mobile [4]. In questi studi i descrittori molecolari erano stati ottenuti con il calcolo quanto-meccanico ab-initio. In questo lavoro si vuole valutare la capacità predittiva di due tipi di descrittori tridimensionali: i WHIM (Weighted Holistic Invariant Molecular descriptors) e i GETAWAY (GEometry, Topology, and Atom-Weights Assembly descriptors), entrambi ottenibili dalle coordinate atomiche degli atomi della molecola, combinate con schemi di pesaggio per alcune proprietà atomiche (volume, elettronegatività, polarizzabilità, ecc.). Anche se ampiamente utilizzati nell'ambito di numerosi studi QSAR/QSPR, le applicazioni di questi descrittori in ambito cromatografico riguardano essenzialmente la gas-cromatografia. Lo scopo di questo studio è quello di valutare se i descrittori WHIM e GETAWAY possono fornire una descrizione sufficientemente accurata dell'effetto della struttura dei soluti in relazioni quantitative struttura/eluente-ritenzione in HPLC in fase inversa.

1. R. Kaliszan, *Chem. Rev.* **2007**,*107*, 3212.
2. R. Todeschini, V. Consonni. *Handbook of Molecular Descriptors*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, **2000**.
3. M. Aschi, A.A. D'Archivio, M.A. Maggi, P. Mazzeo, F. Ruggieri, *Anal. Chim. Acta* **2007**,*582*,235.
4. M. Aschi, A.A. D'Archivio, P. Mazzeo, M. Pierabella, F. Ruggieri, *Anal. Chim. Acta* **2008**,*616*,123.

## A chemometric model for assessment of real drug photodegradation from forced test

*M. De Luca, F. Oliverio, G. Ioele, G. Ragno*

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Calabria, 87036 Rende CS, Italy  
michele.deluca@unical.it

The intrinsic photostability characteristics of new drug substances should be evaluated to demonstrate that, as appropriate, light exposure does not result in unacceptable change. A guideline on Stability Testing of New Drug Substances and Products addressing the recommendations for photostability testing has been published by the ICH Organization. Developing or manufacturing pharmaceutical drugs, a robust photostability testing process is essential to ensure product quality and regulatory compliance.

For drug substances, photostability test should consist of two parts: Forced degradation testing and Confirmatory testing. The purpose of forced degradation testing studies is to evaluate the overall photosensitivity of the material for method development purposes and degradation pathway elucidation. This testing may involve the drug substance alone or in matrix. In these forced degradation studies, a variety of exposure conditions may be used, depending on the photosensitivity of the drug substance involved and the intensity of the light sources used. This information may be useful in developing and validating suitable analytical methods. Confirmatory studies should then be undertaken to provide the information necessary for handling, packaging, and labeling.

For companies it is important to know the real degradation time of the drugs when they are exposed to the solar light. Nevertheless, the sun irradiation intensity is never constant and it changes significantly according to the seasons, the place and the atmospheric conditions. Therefore, the results from the stress tests should be correlated with the virtual degradation times occurring in natural degradation conditions.

A multivariate method, based on PCR (Principal Component Regression) and PLS (Partial Least Squares) modelling, was defined able to extrapolate a real drug degradation from a forced degradation test. The model was built on a series of three photo-sensitive drugs, Nitrofurazone, Melatonin and Amiloride, submitted to light exposure under both sun and artificial source.

PLS model:  $\log \text{deg}\% = a T + b L/W E + c$

where a, b and c are the regression coefficients, T is the exposure time, L is the lux value, W is the light power and E is the absorbed energy.

The main parameters of the natural light, namely illuminance (lux) and irradiation power (W/cm<sup>2</sup>), have been monitored along a three-year period. A so long monitoring time to obtain reliable mean irradiation characteristics was necessary because the high variance of the atmospheric conditions and the different light intensity throughout day.

1. International Conference on Harmonization, "Guidelines for the Photostability Testing of New Drug Substances and Products" *Federal Register* **1997**, 62, 27115-27122 Washington.
2. S.R. Thatcher, *Pharmaceutical Technology* **2001**, 25, 231-239.

# Multivariate analysis for the evaluation of temporal variations in water quality of the South-Paris region

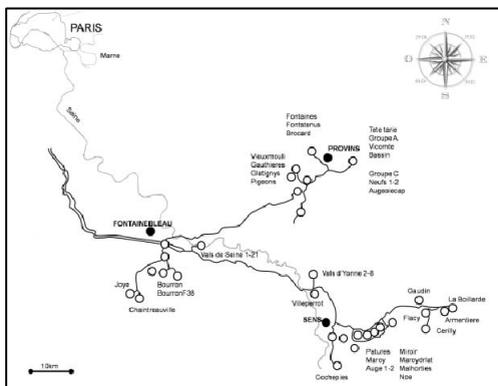
*M. De Luca\**, *F. Oliverio\**, *G. Ioele\**, *G.P. Husson†*, *G. Ragno\**

\*Department of Pharmaceutical Sciences, University of Calabria, 87036 Rende CS, Italy

†Faculty of Pharmacy, University of Paris-Descartes, 75270 Paris, France

The recent trends on environmental protection indicate that, in the immediate future, the treatment rules and the controls about water are tending to increase. Furthermore, the ability to monitor parameters containing critical information on the analysis or treatment of water is very important for research and development. The modern analytical techniques provide an enormous amount of data, which, if processed using multivariate procedures, offers great possibilities for a decision-making process.

By means of multivariate techniques, grouping of samples can be made by unsupervised methods which identify the natural clustering pattern and group objects on the basis of similarities between the samples. The most common methods of unsupervised pattern recognition are cluster analysis (CA) and Classification methods. In particular, classification methods are able to build mathematic models able to individualize the affiliation class of a new object, by using a limited number of independent variables.



We have defined a rapid and accurate methodological procedure, based on CA and soft independent modelling class analogy (SIMCA) classification, applied to the analytical data obtained in the year 2004 from 68 water sources in Paris and its neighbouring south-region. A wide set of data of 73.440 values was collected and the variables carrying largest useful information were selected by Principal Component Analysis (PCA). These parameters included: conductivity, alkalinity, chloride, sulphate, nitrate, hardness, turbidity, *Escherichia coli* and *Streptococcus faecalis*.

A SIMCA model was used to classify the same sources in the following year 2005. The most of the water sources had kept the same analytical profile during the two-year period investigated, but five sources resulted shifting to a different class because of a significant variation of some analytical parameters. This class change was above all caused by the considerable variation of the microbiological parameters.

The proposed procedure proved to be a useful tool to rapidly highlight any change occurring in the time about the water quality. It resulted very effective to handle a complex data matrix carried out from the analysis of a high number of water sources and could be implemented as a fast and efficient method in routine analysis.

## **Analisi di droghe in polvere attraverso calibrazione multivariata basata su spettri NIR in riflettanza**

*D. Melucci<sup>1</sup>, M. Alessandri<sup>1</sup>, M. D'Elia<sup>2</sup>, G. Luciano<sup>3</sup>, R. Leardi<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Dipartimento di Chimica "Ciamician", Università di Bologna, Via Selmi 2, Bologna,

<sup>2</sup> Gabinetto Regionale di Polizia Scientifica per l'Emilia-Romagna, Via Volto Santo 3, Bologna

<sup>3</sup> Dipartimento di Chimica e Tecnologie farmaceutiche ed alimentari (DICTFA), Università di Genova, Via Brigata Salerno (ponte), Genova

Viene presentato un metodo di calibrazione multivariata per l'analisi di principio attivo e sostanze da taglio in sostanze illecite allo stato solido; in particolare si pone l'accento sull'elaborazione dei dati e sulla scelta dei parametri e delle condizioni di calcolo del software chemiometrico utilizzato [1]. Una volta validato, il metodo potrebbe essere utilizzato dalla Polizia Scientifica di Bologna per analisi *in-situ* di sostanze stupefacenti sequestrate sul commercio clandestino.

La metodologia si basa sull'acquisizione in riflettanza di spettri nella regione del vicino infrarosso (NIR) ottenuti irradiando con una sonda la superficie del campione posto all'interno di una provetta da saggio. Si ottengono spettri tipo *fingerprint* nella regione 900-1700 nm che, una volta autoscalati per renderli confrontabili, vengono utilizzati per la costruzione di un modello multivariato attraverso una regressione ai minimi quadrati parziali (PLS). La strumentazione è portatile, la metodologia risulta veloce, facile da eseguire e soprattutto non alterativa, caratteristica questa fondamentale nell'analisi di possibili fonti di prova in ambito giuridico.

Seguendo un opportuno disegno sperimentale sono state preparate ed analizzate miscele standard ternarie e quaternarie contenenti in diversi rapporti le sostanze di interesse, inizialmente utilizzando dei simulatori in luogo dei principi attivi controllati dal Ministero della Sanità. Le miscele standard sono state divise in due gruppi, il *Training Set* e il *Test Set*, utilizzati rispettivamente per la costruzione e la validazione del modello multivariato. Sono stati costruiti diversi modelli variando sia le sostanze sia i parametri di regressione e in alcuni casi i modelli sono stati testati su campioni reali con risultati non significativamente diversi da quelli ottenuti con tecniche consolidate come la GC.

1. Kim H. Esbensen, *Multivariate Data Analysis*. CAMO, V Edizione, 2006.

# **Utilizzo di un elettrodo a pasta di nanotubi di carbonio per l'analisi di esplosivi mediante voltammetria pulsata di adsorbimento e ridissoluzione con calibrazione multivariata**

*D. Melucci, M. Alessandri, C. Locatelli*

Dipartimento di Chimica “G. Ciamician”, Università di Bologna, Via Selmi 2 I-40126 BOLOGNA  
dora.melucci@unibo.it

Nel presente lavoro si descrive l'utilizzo di un elettrodo solido a pasta di nanotubi di carbonio per la ricerca di tracce di esplosivi mediante voltammetria pulsata di adsorbimento e ridissoluzione (DPAdSV).

La voltammetria pulsata è tra le metodologie analitiche basate su sensori elettrochimici che ben si prestano all'analisi di esplosivi, in quanto rapide, sensibili, selettive ed economiche (1). Tuttavia nel caso dell'utilizzo di elettrodi solidi, a causa di un pesante effetto memoria, la risposta strumentale è tale da rendere particolarmente inaccurato il metodo univariato della retta delle aggiunte standard basato sulle aree dei picchi (2). D'altra parte, utilizzare elettrodi solidi costruiti in laboratorio ed utilizzabili come usa e getta può essere molto utile nelle analisi forensi.

L'applicazione del metodo di regressione ai minimi quadrati parziali (PLSR) per eseguire la calibrazione multivariata è ormai pratica chemiometrica consolidata che permette di ottenere modelli quantitativi di elevata affidabilità e capacità predittiva. I voltammogrammi sono dati sequenziali, ma non è comune l'applicazione del metodo PLS a questo tipo di dati.

Nel presente lavoro si presentano i primi studi di fattibilità nel caso di una nuova metodologia basata su DPAdSV utilizzando un elettrodo solido a pasta di nanotubi di carbonio assemblato in laboratorio e applicando l'analisi multivariata dei voltammogrammi mediante metodo PLS. Si riportano i primi risultati ottenuti analizzando campioni standard di esplosivi.

1. J. Wang, *Electroanalysis* **2007**, *19*, 415-423.
2. D. Melucci, C. Locatelli, *Microchem. J.* **2007**, *85*, 321-328.

## **Analisi di mappe gel-elettroforetiche SDS 2D-PAGE mediante decomposizione wavelet**

*M. Demartini<sup>\*</sup>, E. Marengo<sup>\*</sup>, E. Robotti<sup>\*</sup>, M. Bobba<sup>\*</sup>, M. Cocchi<sup>†</sup>*

<sup>\*</sup> Università del Piemonte Orientale “Amedeo Avogadro” via Bellini, 25/G - 15100 Alessandria (ITALY) email: [emarengo@tin.it](mailto:emarengo@tin.it) tel:0131360272 (ITALY)

<sup>†</sup> Università di Modena Reggio Emilia Via G. Campi - 41100 Modena (ITALY) email: [marina.cocchi@unimore.it](mailto:marina.cocchi@unimore.it) tel: 0592055029

E' presentato un nuovo metodo per l'analisi di mappe gel-elettroforetiche SDS-2D-PAGE mediante tecniche di classificazione modellanti e decomposizione dell'immagine con la tecnica Fast Wavelet Transform. Lo scopo di questo metodo è l'individuazione di una procedura automatica per l'analisi delle immagini di mappe gel-elettroforetiche che ne consenta una veloce ed affidabile assegnazione a classi di appartenenza e permetta di identificare gli spot o le zone delle mappe responsabili per questa classificazione. La possibile applicazione della tecnica proposta in campo diagnostico è valutata attraverso l'analisi di gruppi di mappe provenienti da campioni di tessuti sani ed affetti da malattie degenerative.

## A fast electrochemical technique for characterisation of phenolic content in wine

A. Dhroso\*, S. Laschi<sup>†</sup>, G. Marrazza<sup>†</sup>, M. Mascini<sup>†</sup>

\* Department of Industrial Chemistry, Faculty of Natural Sciences, University of Tirana, boulevard "Zogu I", Tirana, ALBANIA

<sup>†</sup> Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Firenze, Polo Scientifico e Tecnologico, via della Lastruccia 3, 50019 Sesto Fiorentino, Firenze, ITALY. e-mail: marco.mascini@unifi.it

Phenolics are one of the fundamental quality components of grapes and wines. Although being present in small amounts, they are responsible for key wine properties, including colour, bitterness, and astringency. Thus, different kind of wines are characterised by a variation in the phenolic content.

The aim of this study was the development of a reliable and fast method for the characterisation of phenolic compounds in different typologies of wines, by their electrochemical behaviour. At this purpose, cyclic voltammetry experiments were carried out on wine samples, using disposable graphite-based screen-printed electrodes as electrochemical transducers. Voltammograms were then elaborated with a suitable software, by obtaining a number of oxidation peaks in the anodic wave, starting from +0.2 V and exceeding +1.2 V, which can be attributed to different groups of phenolics. Results were then presented as diagrams, where peaks heights are distributed vs. their oxidation potential, giving a sort of "spectral distribution" of the phenolic content for each typology of wine.

The method was finally applied for the characterisation of different samples of red and white wines.

1. P.A. Kilmartin, H. Zou, A. Waterhouse, *J. Agric Food Chem.* **2001**, *49*, 1957-1965.
2. O. Ksenzhek, S. Petrova, M. Kolodyazhny *J. Electroanalysis, Chem.* **2007**, *19*, 389-392.

## Sviluppo di nuovi immunosensori, a trasduzione screen printed, confronto con i corrispondenti classici immunosensori amperometrici

L. Campanella\*, G. Favero†, E. Martini\*, F. Mazzei†, M. Tomassetti\*

\*Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza", P.le A.Moro 5, 00185, Roma.

†Dipartimento di Farmacia, Università di Roma "La Sapienza", P.le A.Moro 5, 00185, Roma.

Abbiamo costruito tre nuovi immunosensori amperometrici basati sulla tecnica screen printed. Tutti e tre gli immunosensori erano costituiti di una base ceramica (Corundum), mentre l'elettrodo di lavoro era in platino e quello di riferimento di Ag/AgCl.

L'anticorpo era immobilizzato su una sottile membrana "Immobilon", che era tenuta "pressata" sul trasduttore screen printed per mezzo di una speciale piccola cornice ad incastro, espressamente costruita. Il sistema risultante era estremamente semplice da assemblare e molto economico, poiché lo stesso trasduttore screen printed poteva in tal modo essere riutilizzato, al termine di ogni misura, dopo la semplice sostituzione della membrana.

D'altra parte, la semplicità ed automaticità del montaggio, assicurava la ripetibilità del sistema e della risposta dell'immunosensore.

Sono stati in tal modo sviluppati tre diversi immunosensori screen printed, uno per la lattoferrina, uno per le immunoglobuline G umane, e, da ultimo, un immunosensore per i pesticidi triazinici. Abbiamo scelto questi analiti per testare i nuovi sensori tipo screen printed, sia perché essi rivestono molta importanza in diversi settori (il primo nel settore alimentare-farmaceutico per l'infanzia, il secondo in quello bioclinico, il terzo nel campo ambientale), sia perché, per questi stessi analiti, il nostro gruppo ha recentemente costruito altrettanti immunosensori classici, di tipo amperometrico [1-3]. E' stato così possibile, effettuare un confronto tra immunosensori a trasduzione classica e quelli tipo screen printed ed evidenziare vantaggi e svantaggi dei due diversi sistemi di trasduzione.

1. L. Campanella, R. Dragone, D. Lelo, E. Martini, M. Tomassetti, *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, 384, 915-921.
2. L. Campanella, D. Lelo, E. Martini, M. Tomassetti, *Anal. Chim. Acta* **2007**, 587, 22-32.
3. L. Campanella, E. Martini, M. Tomassetti, *Anal. Letters* 41 (7) (in press).

# Electrochemical preparation of novel polyaniline films as promising materials in molecular imprinting

*R. A. Picca*<sup>\*</sup>, *D. Chirizzi*<sup>\*</sup>, *C. Malitesta*<sup>\*</sup>, *S. A. Piletsky*<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>Laboratorio di Chimica Analitica, Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università del Salento, Via Monteroni, 73100 Lecce (Italy) [rosanna.picca@unile.it](mailto:rosanna.picca@unile.it)

<sup>†</sup>Cranfield Health, Cranfield University, Building 52, Cranfield, Bedfordshire, MK43 0AL (UK)

Molecular Imprinting (MI) is a technology suitable for the preparation of materials with tailor-made binding sites towards target molecules [1]. In particular, it has been exploited to develop molecularly imprinted polymers (MIPs) capable of mimicking biological entities in their affinity and selectivity. Typical monomers used in MI are methacrylic acid [2], 4-vinylpyridine [3] and acrylamide [4] which are chemically polymerised in the presence of a crosslinker. In place of classical methods however, electropolymerisation has been considered as an attractive tool to develop MIPs based on alternative monomers such as pyrrole, o-phenylenediamine, etc. [5, 6]. This strategy reveals extremely useful for the preparation of novel sensing layers as it allows the direct integration of the recognition element with the transducer [7]. In previous works we have already shown the several possibilities for coupling electrochemical polymers and MI [6, 8], in this communication we report on the preparation and characterisation of a new polymer starting from a multifunctional monomer, N-phenylethylene diamine methacrylamide (NPEDMA), which possesses an aniline moiety, capable of electropolymerisation, and a methacrylamide group which could ensure a successful interaction with template. Moreover, results regarding preliminary imprinting attempts against possible target molecules (e.g. amino acids, phenols) will be also shown.

1. K. Haupt *Chem. Commun.* **2003**, 171-178.
2. G. Vlatakis, L.I. Andersson, R. Müller, K. Mosbach *Nature* **1993**, *361*, 645-647.
3. R. Weiss, A. Molinelli, M. Jakusch, B. Mizaikoff *Bioseparation* **2001**, *10*, 379-387.
4. J. Zhou, X. He, Y. Li *Anal. Commun.* **1999**, *36*, 243-246.
5. Ramanaviciene, A. Ramanavicius *Biosens. Bioelectron.* **2004**, *20*, 1076-1082.
6. C. Malitesta, I. Losito, P.G. Zambonin *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 1366-1370.
7. A. Merkoçi, S. Alegret *TrAC-Trend. Anal. Chem.* **2002**, *21*, 717-725.
8. E. Mazzotta, R.A. Picca, C. Malitesta, S.A. Piletsky, E.V. Piletska *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *23*, 1152-1156.

## Development of over-oxidized polypyrrole coated electrodes for the selective detection of dopamine

*E. Mazzotta, C. Malitesta*

Dipartimento di Scienza dei Materiali, Università del Salento  
via Monteroni, 73100 Lecce (Italy) [elisabetta.mazzotta@unile.it](mailto:elisabetta.mazzotta@unile.it)

The interest in revealing DA has considerably grown in recent years as it is an important neurotransmitter involved in brain disorders such as Parkinson and shizofrenia [1]. Due to its electroactivity, electrochemical detection has long been well-explored [1-4]. One of the most important goal in the field is the development of materials with enhanced anti-interference properties against AA. Its concentration in extracellular fluid is in fact higher than DA and its oxidation potential is very close to DA on unmodified electrode [4]. One strategy in overcoming these problems is the use of permselective films attracting the cationic DA and repelling anionic species as AA. Among materials employed for this purpose, overoxidized polypyrrole (oPPY) received most attention [1-3]. Its anion-exclusion properties are due to high electron density groups, introduced into the film during overoxidation [5], acting as a barrier to hinder the diffusion of anions into the film.

In the present work oPPY films were used for the selective detection of dopamine (DA) at nanomolar concentrations, typical of extracellular fluids. Different approaches were explored both for the electrosynthesis and the overoxidation of the film revealing that the experimental scheme for film preparation plays a key role in determining oPPY anti-interference properties. This study partially contrasts with other published results showing enhanced DA permselectivity of oPPY. Moreover, the behaviour of DA in the presence of AA was carefully examined and the effect of AA on the increasing of DA oxidation current was verified. This evidence was explained in terms of the reduction of the oxidized form of DA, *i.e.* dopamine-o-quinone, by AA thus generating a DA increased concentration at the electrochemically active sites [6]. Thus DA detection can be successfully achieved by adding an excess of AA.

Finally, unlike other reported approaches, the proposed film preparation ways are rapid and easy and a low cost device is used. Under optimal selected conditions, sensor showed good anti-interfere ability as well as good stability and reproducibility.

1. K. Pihel, Q.D. Walker, R.M. Wightman *Anal. Chem.* **1996**, 68, 2084-2089.
2. H. Olivia, B.V. Sarada, D. Shin, T.N. Rao, A. Fujishima, *Analyst* **2002**, 127, 1572-1575.
3. Y. Li, P. Wang, L. Wang, X. Lin, *Biosens. Bioelectron.* **2007**, 22, 3120-3125.
4. J.W. Mo, B. Ogorevc, *Anal. Chem.* **2001**, 73, 1196-1202.
5. F. Palmisano, C. Malitesta, D. Centonze, P.G. Zambonin, *Anal. Chem.* **1995**, 67, 2207-2211.
6. X. Zhang, B. Ogorevc, G. Tavcar, I.G. Svegli, *Analyst* **1996**, 121, 1817-1822.

## Dispersione stabile di carbon black per aumentare le prestazioni analitiche degli elettrodi stampati monouso: un'applicazione per la determinazione del $\text{Hg}^{2+}$

*F. Arduini,\* C. Majorani,\* A. Amine,† F. Cataldo,‡ D. Moscone,\* G. Palleschi\**

\*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata, Via della Ricerca Scientifica, 1 – 00133 Roma, Italia; Consorzio Interuniversitario Biostrutture e Biosistemi “INBB”, Viale Medaglie d’Oro, 305 Roma, Italia

†Faculté de Sciences et Techniques de Mohammedia, B.P. 146, Mohammedia, Marocco

‡Soc. Lupi Chemical Research Via Casilina 1626/A, 00133 Roma

Negli ultimi anni molti lavori di ricerca sono stati focalizzati sullo studio di materiali nanostrutturati come i nanotubi a parete singola e multipla. Il carbon black o nero di carbonio è un materiale nanostrutturato a basso costo usato principalmente come stabilizzante per la protezione dai raggi ultravioletti (UV) in applicazioni plastiche e nella produzione di pneumatici. In letteratura pochi lavori utilizzano il carbon black per misure elettrochimiche [1]. Nel nostro lavoro di ricerca è stata preparata una dispersione di carbon black in acetonitrile a concentrazione 1 mg/ml ed utilizzata per modificare elettrodi stampati con la tecnica “dip and dry”. Gli elettrodi modificati sono stati caratterizzati per la prima volta dal punto di vista elettrochimico e diverse molecole sono state testate quali NADH, epinefrina, norepinefrina, benzochinone e dopamina mostrando un aumento della corrente di ossidazione, e in alcuni casi, quali epinefrina, norepinefrina e benzochinone una diminuzione del  $\Delta E_p$  [2].

In questo lavoro di ricerca è stata valutata la stabilità della dispersione studiando la risposta in voltammetria ciclica del ferrocianuro con elettrodi modificati con dispersione di carbon black a diversi tempi di preparazione. Gli elettrodi modificati con il carbon black sono anche testati con diversi tioli quali tiocolina, cisteina, cisteamina e glutatione. Anche per tali molecole è stato osservato una diminuzione del potenziale di ossidazione e un aumento della corrente di ossidazione. Gli elettrodi sono stati quindi utilizzati per la determinazione in amperometria dei tioli sopra riportati mostrando per la tiocolina un intervallo di linearità ( $3 \times 10^{-8} \text{ M} - 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) e un limite di rilevabilità (LOD) uguale a  $3 \times 10^{-8} \text{ M}$ , LOD minore rispetto ai limiti ottenuti in letteratura [3]. Tale sensibilità è stata utilizzata per la misura del mercurio ( $\text{Hg}^{2+}$ ) misurando la formazione del composto non elettroattivo tra  $\text{Hg}^{2+}$  e tiocolina. Per ottenere bassi limiti di rilevabilità di  $\text{Hg}^{2+}$  sono stati ottimizzati i seguenti parametri: il potenziale applicato, il pH e la concentrazione di tiocolina, ottenendo un limite di rilevabilità di  $\text{Hg}^{2+}$  uguale a  $7.5 \times 10^{-9} \text{ M}$  (1.5 ppb). L’interferenza degli altri metalli è stata valutata dimostrando una buona selettività per il  $\text{Hg}^{2+}$ . Prove preliminari in campioni reali di acqua potabile hanno evidenziato le possibili potenzialità di questo sistema come metodo di screening per l’analisi di  $\text{Hg}^{2+}$ .

1. C. A. Frysz, D. D. L. Chung *Carbon* **1997**, 35, 1111-1127.
2. F. Arduini, F. Di Giorgio, C. Majorani, A. Amine, D. Moscone, G. Palleschi *2007 Congresso Nazionale di Chimica Analitica* **2007**
3. G. Liu, S. L. Riechers, M. C. Mellen, Y. Lin *Electrochem. Comm.* **2005**, 7, 1163-1169.

## Ottimizzazione di diversi tipi di immobilizzazione della colinesterasi su elettrodi stampati monouso per ottenere un biosensore con elevata stabilità operativa e tempo di vita

F. Arduini,<sup>\*</sup> A. Amine,<sup>†</sup> D. Moscone,<sup>\*</sup> G. Palleschi<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata, Via della Ricerca Scientifica, 1 – 00133 Roma, Italia

<sup>†</sup>Faculté de Sciences et Techniques de Mohammedia, B.P. 146, Mohammedia, Marocco

I biosensori basati sull'inibizione delle colinesterasi vengono utilizzati per la misura dei pesticidi organofosforici e carbammici o per la misura di gas nervini come riportato ampiamente in letteratura [1,2]. La limitata applicazione dei biosensori è sicuramente dovuta alla limitata stabilità del componente biologico immobilizzato sul trasduttore di segnale e quindi, nel biosensore sopra riportato, alla limitata stabilità dell'enzima acetilcolinesterasi. Nell'ottica di sviluppare un biosensore per la misura di pesticidi producibile su larga scala, sono stati sviluppati biosensori basati su elettrodi stampati sui quali sono stati immobilizzati enzimi commercialmente disponibili quali la butirilcolinesterasi estratta da siero del cavallo e l'acetilcolinesterasi estratta da anguilla. A tal proposito, sono state sviluppati diversi tipi di immobilizzazione per ottenere un biosensore stabile sia in condizioni non operative, in modo da permettere la sua conservazione a temperature ambiente per lungo tempo, e operative per consentire misure in continuo. La misura dell'attività enzimatica è stata eseguita utilizzando il substrato non naturale acetiltiocolina per l'enzima acetilcolinesterasi e la butiriltiocolina per l'enzima butirilcolinesterasi. Il prodotto enzimatico (tiocolina) è stato misurato utilizzando il mediatore elettrochimico esacianoferrato ferrico (Prussian Blue) adsorbito su elettrodi stampati. Il Prussian Blue mostra infatti, proprietà elettrocatalitiche verso la reazione di ossidazione della tiocolina come precedentemente dimostrato dal nostro gruppo di ricerca [3]. La misura della tiocolina è stata eseguita in amperometria con un potenziale applicato di +200 mV vs Ag/AgCl. Anche la stabilità dei substrati acetiltiocolina e butiriltiocolina è stata studiata e ottimizzata per consentirne la conservazione a temperatura ambiente. Il biosensore è stato poi testato per la misura del pesticida organofosforico paraoxon, ottenendo un limite di rilevabilità di 5 ppb con un tempo di incubazione di 10 min. A tutt'oggi i biosensori hanno mantenuto inalterate le caratteristiche analitiche dopo un anno di conservazione a temperatura ambiente.

1. F. Arduini, F. Ricci, C. S. Tuta, D. Moscone, A. Amine, G. Palleschi *Anal. Chim. Acta* **2006**, 580, 155-162.
2. F. Arduini, F. Ricci, A. Amine, D. Moscone, G. Palleschi *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 1049-1057.
3. F. Ricci, F. Arduini, A. Amine, D. Moscone, G. Palleschi *J. Electroanal. Chem.* **2004**, 663, 229-237.

## Determinazione dell'interferente endocrino BPA tramite un biosensore con tirosinasi immobilizzata su elettrodi stampati modificati con carbon black e tionina

D. Di Tuoro<sup>\*,†</sup>, M. Portaccio<sup>\*,†</sup>, D. G. Mita<sup>\*,†</sup>, F. Arduini<sup>\*,†</sup>, D. Moscone<sup>\*,†</sup>

\*Consorzio Interuniversitario Biostrutture e Biosistemi "INBB", Viale Medaglie d'Oro, 305 Roma, Italy

†Dipartimento di Medicina Sperimentale, Seconda Università di Napoli, Via S. Maria di Costantinopoli, 16 – 80131 Napoli, Italy

‡Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata, Via della Ricerca Scientifica, 1 – 00133 Roma, Italy

Il bisfenolo A (BPA) è un interferente endocrino: esso ha quindi la capacità di interagire con i sistemi ormonali dell'organismo, mimando l'azione di alcuni ormoni estrogeni o contrastandone l'attività. La sua misura è di grande interesse in quanto tracce di BPA sono state trovate in campioni di acqua o nei cibi conservati in recipienti di polycarbonato. Il BPA è infatti presente nei materiali a base di polycarbonato che vengono impiegati per la produzione di bottiglie per acqua, utensili da cucina e contenitori per alimenti tra cui anche biberon.

La misura del BPA è eseguita solitamente mediante tecniche cromatografiche che richiedono strumentazione costosa, personale specializzato e trattamento del campione, requisiti che rendono questa tecnica non utilizzabile per misure in campo. Le misure elettrochimiche hanno invece il vantaggio di essere semplici, eseguibili con sistemi di misura miniaturizzabili, adatti anche a misure in campo effettuate da personale non specializzato.

La misura elettrochimica diretta del BPA è possibile, ma come per i composti fenolici in generale, è caratterizzata dalla passivazione della superficie elettrodica. Un metodo alternativo è l'utilizzo di un biosensore basato sull'enzima tirosinasi che catalizza l'idrossilazione di composti fenolici, con la conseguente ossidazione da *o*-fenolo a *o*-chinone. In questo lavoro è stato sviluppato un biosensore in cui la tirosinasi è stata immobilizzata con Nafion, su elettrodi stampati monouso modificati con carbon black e tionina. La tionina è un mediatore elettrochimico in grado di catalizzare la reazione di riduzione dell'*o*-chinone [1]. La deposizione della tionina è avvenuta mediante adsorbimento sulla superficie di lavoro degli elettrodi stampati modificati con carbon black. La presenza del carbon black ha infatti permesso di ottenere un film di tionina più stabile rispetto a quello ottenuto su elettrodi non modificati. Gli elettrodi così ottenuti sono stati caratterizzati elettrochimicamente. Risultati preliminari mostrano un LOD di  $1,5 \times 10^{-7}$  M.

*Ringraziamenti:* Questo lavoro è stato parzialmente finanziato dall'Istituto Superiore Prevenzione e Sicurezza del Lavoro (ISPESL).

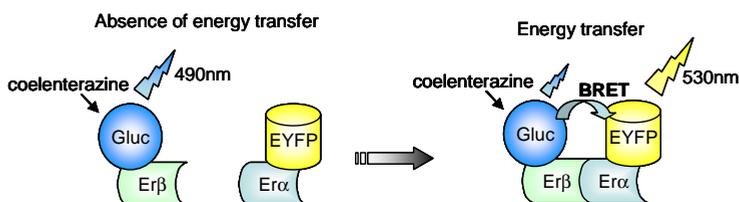
1 E. Dempsey, D. Diamond, A. Collier *Biosens. Bioelectron.* **2004**, 20, 367-377.

# A new bioluminescent donor, *Gaussia luciferase*, for quantitative Bioluminescence Resonance Energy-Transfer (BRET) assays for estrogens

*L. Cevenini, E. Michellini, L. Mezzanotte, A. Roda*

Department of Pharmaceutical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy.  
(luca.cevenini2@studio.unibo.it)

A new bioluminescence resonance energy transfer (BRET) homogeneous assay to evaluate the presence of estrogen-like compounds, such as endocrine disrupting compounds (EDCs), has been developed. The molecular recognition system is based on the use of human estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  (hER $\alpha$  and hER $\beta$ ). hER $\alpha$  monomer was genetically fused either to *Gaussia luciferase* (Gluc) or to enhanced yellow fluorescent protein (EYFP); in the presence of estrogens, ER $\alpha$  homo-dimerization brings Gluc and EYFP molecules close enough for an efficient energy transfer. *Gaussia luciferase* was also fused with ER $\beta$  to evaluate ER $\alpha$ -ER $\beta$  hetero-dimerization with the previously described fusion protein ER $\alpha$ -EYFP. In the absence of estrogens, the Gluc emission with a maximum at 490 nm is observed upon addition of the substrate coelenterazine; when a receptor agonist is added, hER homo- or hetero-dimerization occurring among the fusion proteins Gluc-hER $\alpha$  and hER $\alpha$ -EYFP brings Gluc and EYFP at a distance suitable for energy transfer to occur and a decrease in light emission at 490 nm is observed as well as the appearance of a signal at 530 nm due to EYFP emission.



As reported by Gambhir (2), the human ER (hER) ligand-binding domain (hER-LBD) undergoes intra-molecular conformational changes when in complex with its ligand. We exploited this property to develop intramolecular folding BRET sensors by fusing Gluc and EYFP at the N- and C- termini of hER $\alpha$ -LBD respectively. A more sensitive and predictive *in vivo* assay will be developed by transfecting HepG2 cells with two plasmids containing the genes coding for BRET couple fusion proteins or the unique one for intra-molecular BRET assay. The main advantage of this *in vivo* format is that it allows protein- protein interactions to be monitored in real time and in a physiological environment, within live cells.

1. E. Michellini, M. Mirasoli, M. Karp, M. Virta, A. Roda *Anal. Chem.* **2004** 76, 7069-76.
2. S.S. Gambhir, R. Paulmurugan *Proc Natl Acad Sci U S A.* **2006** 103, 15883-8.

## DNA biosensor for *Bonamia exitiosa* detection in *Ostrea edulis* samples

*M. Mascini*<sup>\*</sup>, *V. Narcisi*<sup>†</sup>, *M. del Carlo*<sup>\*</sup>, *D. Compagnone*<sup>\*</sup>, *F. Di Falco*<sup>†</sup>, *P. G. Tiscar*<sup>†</sup>

<sup>\*</sup>Università di Teramo, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, 64023 Teramo

<sup>†</sup>Università di Teramo, Dipartimento di Scienze Biomediche Comparate, 64100 Teramo

*Bonamia* sp is a well-known protozoan parasite of the flat oyster, *Ostrea edulis*, which has caused significant loss of oysters in the world over the last decade (1). Bonamiosis is caused by *B. ostreae* and *B. exitiosa*, but in Europe, before the year 2007, only the first species was responsible of infection. In 2007 also *B. exitiosa* was found infecting the oyster in Spain, representing the first report of this parasite along European waters (2). The two parasites differ just for few DNA bases in the amplified strains and after PCR, in order to identify the proper *Bonamia* sp, a restriction fragment length polymorphism (RFLP) assay is necessary. For the identification of the species DNA biosensors are a good alternative to well-developed RFLP or fluorescent hybridization detection methods (3). Our approach is focussed on Post-PCR nucleic acid analysis by using a label-free piezoelectric biosensor detecting complementary DNA molecule of *B. exitiosa* after amplification step. In this years many efforts were made for optimising the hybridisation procedure using synthetic products but efficient detection of PCR real samples still remains the main problem in biosensor field. Due to the complexity of the matrix, PCR samples have to be pre-treated before analysis. The most limiting problem is the re-annealing of the denatured strands. Many different strategies have been reported at this regard, but, a fast and simple procedure common to all the detection methods, is not yet found. The aim of this work was to simplify at the maximum the procedure from the crude sample to the final results thus we tried to optimise the thermal denaturation the simplest method to obtain two single-stranded of PCR products, one of which able to hybridise with the immobilised probe without any other reagents. In this procedure the higher steric hindrance of the amplified target sequence reduced the hybridisation kinetic. Amplicon re-annealing also decreased the availability of the amplified target sequence and it was thus responsible of the lower hybridisation efficiency. An important factor to the insufficient hybridisation with the immobilised probe with denaturing PCR strand can be found in the secondary structures within a ssDNA fragment formed in the presence of repetitive sequences (4). To overcome this problem in the PCR hybridisation reaction, we selected three different oligonucleotides as probes in different parts of the PCR strand, by studying, with an appropriate software (5), the potential configuration of secondary structure in the amplified sequence. the thiolated DNA probes were individually chemisorbed onto one-side gold electrode of piezoelectric quartz crystal forming a stable self-assembled layer. Regeneration, sensitivity, reproducibility, repeatability, nonspecific binding and cross-reactivity of the affinity sensors were investigated. The synergic action of each probe signal was highlighted processing data with Principal Component Analysis (PCA).

1. N. Cochenec, F. Le Roux, F. Berthe, and A. Gerard *Journal of Invertebrate Pathology* **2000**, 76, 26–32.
2. E. Abollo, A. Ramilo, S. M. Casas, P. Comesaña, A. Cao, M. J. Carballal, A. Villalba *Aquaculture* **2008**, 274, 201–207.
3. F. Lucarelli, S. Tombelli, M. Minunni, G. Marrazza, M. Mascini *Anal. Chim. Acta* **2008**, 609, 139–159.
4. G. Marrazza, G. Chiti, M. Mascini, M. Anichini, *Clin. Chem.* **2000**, 46, 31–37.
5. M. Zuker *Nucleic Acids Res.* **2003**, 31, 3406–3415.

SE\_P63

## Innovative Electrochemical Genosensor based on Micro-Analytical Flow System

*E. Gonzalez Fernandez*<sup>\*†°</sup>, *S. Laschi*<sup>\*</sup>, *I. Palchetti*<sup>\*</sup>, *G. Marrazza*<sup>\*</sup>, *M. Mascini*<sup>\*°</sup>, *J. S. Rossier*<sup>#</sup>,  
*F. Reymond*<sup>#</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Firenze

Via della Lastruccia 3, 50019 Sesto Fiorentino, *e-mail*:giovanna.marrazza@unifi.it

<sup>†</sup>Departamento de Química Física y Analítica, Universidad de Oviedo, Julian Clavería 8, Oviedo, 33006, Spain

<sup>°</sup>Istituto Nazionale Biostrutture e Biosistemi (INBB), Viale delle Medaglie d'Oro 305, Roma

<sup>#</sup>DiagnoSwiss S.A., Rte de l'Ile-au-Bois 2, 1870 Monthey, Switzerland

In this work, the characterization of a rapid and sensitive micro-analytical flow device (GRAVI<sup>TM</sup> Cell, DiagnoSwiss) for the electrochemical detection of the hybridization reaction is reported. GRAVI<sup>TM</sup>- Cell is a USB powered, microfluidics-based immunoassay device for running bead-protocols. This innovative system combines a special chip containing eight polymer microchannels, with a portable, computer-controlled instrument. With fluidics solely driven by natural forces, there are no serviceable pumps, tubes nor valves. Given desktop dimensions and USB powering, the instrument is really portable. The presence of micro-electrodes in each channel allows the direct quantification of the affinity reaction by conducting eight in-parallel electrochemical measurements.

The system was used as platform for affinity experiments using oligonucleotide modified paramagnetic particles. In our approach both hybridization and labeling events were performed on streptavidin-coated paramagnetic microparticles functionalized with a biotinylated capture probe. Modified beads, introduced in the micro-channel inlet, accumulate nearby the electrode surface by virtue of a magnet array. After sandwich hybridization with the biotinylated complementary sequence, the hybrid was labeled with a streptavidin-alkaline phosphatase (ALP) conjugate. The electrochemical substrate for ALP revelation was 4-AminoPhenyl Phosphate (PAPP). Solutions and reagents are sequentially flown through the micro-channels, until enzyme substrate is added for in situ signal detection. Upon readout, the magnet array is flipped away, beads are removed by addition of regeneration buffer, and the so-regenerated chip is ready for the following series of assays.

This protocol was applied to the analytical detection of real samples; obtained results demonstrated that the analytical procedure based on the use of paramagnetic beads allowed the possibility to measure nM level of DNA and RNA sequences, with high reproducibility.

## **Biotex: sensori indossabili per applicazioni biomediche**

*F. Di Francesco*,<sup>\*</sup> *D. Costanzo*,<sup>§</sup> *P. Salvo*,<sup>§</sup> *D. De Rossi*,<sup>§</sup> *M. G. Trivella*,<sup>†</sup> *V. Robert*,<sup>□</sup>  
*D. Diamond*,<sup>‡</sup> *J. Luprano*,<sup>◦</sup>

<sup>\*</sup>Dip. Chimica e Chim. Ind.- Università di Pisa, e-mail: [fdifra@dccci.unipi.it](mailto:fdifra@dccci.unipi.it)

<sup>§</sup>Centro Interdipartimentale E. Piaggio- Università di Pisa

<sup>†</sup>Istituto di Fisiologia Clinica – CNR, Pisa

<sup>□</sup>CEA -Leti/MINATEC, Grenoble, Francia

<sup>‡</sup>National Center for Sensor Research – Dublin City University, Dublino, Irlanda

<sup>◦</sup>Centre Suisse d'Electronique et de Microtechnique – Neuchatel, Svizzera

L'integrazione negli indumenti di strumenti per il monitoraggio della salute comporta vantaggi in termini di sicurezza e comfort. La bassa invasività e l'assenza di prelievi dovrebbero consentire il monitoraggio a distanza delle condizioni di salute di una persona con una tecnologia facilmente accettabile dagli utenti. In questa direzione si è mosso il progetto europeo Biotex (<http://www.biotex-eu.com/>), il cui intento è stato quello di dimostrare la fattibilità di misura di parametri fisiologici e chimici per mezzo di sensori integrabili/accoppiabili ad un tessuto. I fluidi biologici considerati come campione sono stati sudore ed essudato delle ferite. Oltre a parametri come elettrocardiogramma, frequenza respiratoria, velocità di sudorazione e saturazione di ossigeno nel sangue (transcutanea), si è messa a punto la misura di pH, conducibilità, concentrazione degli ioni sodio e cloruro. L'acquisizione dei dati avviene per mezzo di un'elettronica dedicata in grado di mostrarli su uno schermo LCD, immagazzinarli e/o inviarli a distanza con tecnologia Bluetooth o GPRS. Nel presente lavoro sono mostrate le strategie utilizzate ed i principali risultati ottenuti.

## Caratterizzazione diretta di fitochelatine nitrosilate in cellule di *Arabidopsis thaliana* trattate con cadmio mediante LC-ESI-LIT-MS/MS e LC-ESI-QTOF-MS

F. Speroni<sup>1</sup>, M. Terenghi<sup>1</sup>, L. Elviri<sup>1</sup>, R. De Michele<sup>2</sup>, E. Vurro<sup>3</sup>, F. Lo Schiavo<sup>2</sup>,  
M. Careri<sup>1</sup>, A. Mangia<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università degli Studi di Parma, V.le Usberti 17/A, 43100, Parma

<sup>2</sup>Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Padova, Italia

<sup>3</sup>Dipartimento di Biologia Evolutiva e Funzionale, Università degli Studi di Parma

Le fitochelatine (PC<sub>n</sub>) sono peptidi di origine vegetale appartenenti alla famiglia delle metallotioneine di classe III e svolgono un ruolo importante nella strategia di difesa adottata dalle piante per difendersi dall'azione nociva dei metalli pesanti come Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>. Le PC<sub>n</sub> sono oligopeptidi ad alto contenuto di cisteina (Cys), aventi formula generale (γ-Glu-Cys)<sub>n</sub>-Gly con n=2-11 (comunemente 2-5).

Nel presente lavoro è stata dimostrata per la prima volta la presenza di forme Cys-nitrosilate di PC<sub>2</sub>, PC<sub>3</sub> e PC<sub>4</sub> in campioni di cellule di *Arabidopsis thaliana* sottoposte a stress da cadmio, mediante impiego di tecniche di cromatografia liquida-spettrometria di massa (LC-MS) con sorgente electrospray (ESI) (1). La Cys-nitrosilazione rappresenta una modificazione post-traduzionale transiente di grande importanza; in grado di regolare diversi processi segnale; tuttavia, la scarsa stabilità in sorgente ESI delle forme nitrosilate ne ha notevolmente ritardato lo studio mediante tecniche di spettrometria di massa. In quest'ambito, la stabilità in fase gas delle forme mono-nitrosilate di PC<sub>2</sub>, PC<sub>3</sub> e PC<sub>4</sub> è stata studiata mediante ESI con analizzatore a trappola ionica lineare (LIT) e quadrupolo tempo di volo (QTOF). I risultati ottenuti variando l'energia di collisione (da 5 a 35 eV) hanno evidenziato la maggiore stabilità del gruppo nitro su fitochelatine a catena polipeptidica più lunga (PC<sub>3</sub> e PC<sub>4</sub>) rispetto a PC<sub>2</sub>. Questa differenza può essere attribuita alla presenza di un numero più elevato di coppie Cys/Glu in PC<sub>3</sub> e PC<sub>4</sub> rispetto a PC<sub>2</sub> in grado di stabilizzare il gruppo nitro. Inoltre, in PC<sub>2</sub> è favorita la perdita del gruppo NO, mentre PC<sub>3</sub> e PC<sub>4</sub> presentano l'uscita del gruppo HSNO come processo di frammentazione energeticamente più favorito. Questo risultato si può spiegare con la maggiore flessibilità della catena polipeptidica di PC<sub>3</sub> e PC<sub>4</sub>, il cui moto porta all'avvicinamento degli atomi di ossigeno e zolfo idrogeno-accettori agli atomi idrogeno-donatori, favorendo l'uscita del gruppo HSNO (o SNOH).

I risultati sono stati infine confermati da misure di massa esatta (accuratezza < 6ppm) mediante LC-ESI-QTOF-MS sia delle forme mononitrosilate di fitochelatine sia dei frammenti ottenuti per collisione indotta.

- 1 R. De Michele, E. Vurro, C. Rigo, L. Elviri, M. Di Valentin, A. Costa, M. Careri, M. Zottini, L. Sanità di Toppi, F. Lo Schiavo, *Plant Physiol.* (2008) inviato per la pubblicazione.

## **Sindrome di Down e patologie associate: studio quantitativo dell'anidraasi carbonica II quale possibile biomarker**

*L. Callipo, R. Gubbiotti, R. Samperi, A. Laganà*

Dipartimento di Chimica, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma  
riccardo.gubbiotti@uniroma1.it

La Sindrome di Down (SD) è la prima malattia genetica per la quale è stata riconosciuta una base di alterazione cromosomica. Negli ultimi anni è apparso chiaro che, a fini diagnostici, lo studio dei profili proteici presenta notevoli vantaggi rispetto all'analisi del genoma e del trascrittoma. La proteomica quindi è diventata uno degli interessi principali della medicina di laboratorio, soprattutto per la possibilità che essa offre nell'individuazione di biomarcatori di patologie.

Studi biochimici recenti sulla SD hanno riguardato le proteine espresse negli oligodendrociti, cellule della materia bianca del sistema nervoso centrale. Una delle proteine più abbondanti è l'*Anidraasi Carbonica II (CA II)*. Diversi studi hanno evidenziato che la *CA II* viene sovra-espressa negli oligodendrociti di soggetti di età neonatale e pre-adolescenziale affetti da SD<sup>1</sup>. La *CA II* potrebbe poi essere rilasciata nel sangue periferico, rappresentando un biomarcatore delle patologie associate alla SD, quali l'Alzheimer, le cardiopatie ecc.

Il principale obiettivo di questa ricerca è stato quello di indagare l'eventuale sovra-espressione della *CA II* in campioni di siero di soggetti affetti da SD. E' stata quindi sviluppata una metodologia analitica innovativa e "label free", basata sulla spettrometria di massa, che consente una quantificazione assoluta della proteina di interesse.

L'analisi quantitativa è stata effettuata costruendo una retta di calibrazione in matrice utilizzando un peptide di sintesi che riproduce la sequenza di un frammento triptico della *CA II* e un altro peptide di sintesi utilizzato come standard interno. Per la fase di pretrattamento del campione sono stati testati la cromatografia in fase inversa e l'immuno-precipitazione mediante l'utilizzo di beads magnetiche funzionalizzate con un anticorpo specifico anti-*CA II*.

Il digerito triptico della *CA II* è stato analizzato con due differenti tecniche mass spettrometriche: la cromatografia liquida-ionizzazione elettrospray-spettrometria di massa tandem (LC/ESI-MS/MS) e, l'innovativa cromatografia liquida on-chip accoppiata con la spettrometria di massa tandem e sorgente nanoelettrospray (on-Chip LC/ESI-MS/MS). I limiti di quantificazione ottenuti sono compresi tra 0.1 ng  $\mu\text{l}^{-1}$  (on-Chip LC/ESI-MS/MS) e 1.2 ng  $\mu\text{l}^{-1}$  (LC/ESI-MS/MS). I limiti di quantificazione riportati sono espressi in ng di proteina per  $\mu\text{l}$  di siero processato.

Il metodo è stato poi applicato a campioni reali mettendo a confronto il siero di individui, dello stesso sesso ed età, sani e affetti da SD. I risultati ottenuti hanno mostrato un'evidente sovra-espressione della *CA II* nel siero degli individui affetti da SD.

*Si ringrazia il MiUR (progetto PRIN 2006) per aver cofinanziato la ricerca.*

Palminiello, S.; Kida, K.; Walus, M.; Wisniewski, E. K.; Wierza-Bobrowicz, T.; Rabe, A.; Alberini, G.; Golabek, A. A. *Brain Res.* **2008**, *1190*, 193-205.

## Identification and characterization of *Lycopersicon esculentum* Polygalacturonase

*S. Indelicato*,\* *D. Aiello*,<sup>†</sup> *F. Mazzotti*,<sup>†</sup> *A. Napoli*,<sup>†</sup> *L. Ceraulo*,\* *G. Sindona*<sup>†</sup>

\*Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Palermo.

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica, Università della Calabria.

The tomato (*Lycopersicon esculentum*) is widely produced and consumed vegetable in raw and processed products. Fresh and cooked tomato is a basic element of the Mediterranean diet. Recently, several studies have described the allergenicity of tomato, which is prevalent and diffused in the Mediterranean area, mainly in the pediatric-young population.

Tomato induces IgE-mediated type I allergy related to pollenosis and OAS (Oral Allergy Syndrome) may be caused by cross-reactivity.

Polygalacturonase 2A was demonstrated to be the IgE binding allergenic protein in tomato. It is the catalytic subunit of the polygalacturonase isozyme 1 and 2 (PG1 and PG2). It acts in synergy with the pectinesterase, in the ripening process, it is involved in cell wall metabolism and shows peroxidase activity.

In this work, we present a proteomic investigation on tomato fruits Gencana (Italy). Fresh tomatoes were obtained from a local market, then were cut off the calyx and homogenized. The vegetable homogenized was extracted in saline solution and then fractionated using different medium. The fractions were directly analyzed by linear MALDI MS, in order to obtain a protein profile.

By combining SDS-PAGE with matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI TOF-TOF/MS), and by using the available databases for tomato and other species, as well as tomato expressed sequence tags (ESTs), a comprehensive analysis of the tomato fruit proteome has been performed.

Endopolygalacturonase (gi: 225933) and Polygalacturonase 2A precursor (gi: 129939) were identified by applying proteomics approach.

1. W. Thanakorn, N. Notiko, M. Tatsuya, O. Nobuo, O. Tadashi Biosci. Biotechnol. Biochem. **2003**, *67*(6), 1299-1304.
2. M. Reche, C. Y. Pasqual, J. Vincente, T. Caballero, F. Martin-Muñoz, S. Sanchez, M. Martin-Esteban *Allergy* **2001**, *56*, 1197-1201.

## Identificazione e caratterizzazione di allergeni nella *Juglans Regia*

D. Aiello,\* L. Di Donna,\* S. Indelicato,<sup>†</sup> A. Napoli,\* G. Sindona\*

\* Dipartimento di Chimica, Università della Calabria.

<sup>†</sup> Dipartimento di Chimica e Tecnologie Farmaceutiche, Università degli Studi di Palermo.

L'allergia alle differenti tipologie di noci (noci, nocciole, arachidi, anacardi) è estremamente diffusa e generalmente insorge nell'età infantile, persistendo poi per tutta la vita. Attualmente circa l'1-2% degli adulti e il 5-7% dei bambini soffre di allergia alimentare di tipo I IgE-mediata, tra questi circa lo 0,2% e lo 0,7%, rispettivamente, è allergico ad uno o più tipi di noce.

Al fine di effettuare una precoce diagnosi delle allergie alimentari e di ottimizzare il trattamento terapeutico, è essenziale la caratterizzazione molecolare dei candidati antigeni. Numerose ricerche, infatti, sono state condotte nel tentativo di caratterizzare gli allergeni responsabili della sensibilizzazione e delle reazioni allergiche alle noci, rivelando che molti antigeni della noce sono proteine di conservazione quali le viciline, le legumine e le albumine 2S.

La *Juglans Nigra* e la *Juglans Californica*, native del Nord America, la *Juglans Regia*, d'origine inglese, sono tra le varietà di noci commercialmente più diffuse, mentre in Italia la specie più nota è la noce di Sorrento, oggetto di tale lavoro. In letteratura le proteine catalogate come allergeni contenuti nelle noci, sono sei: Jug n 1 e Jug n 2 della *J. Nigra*, Jug r 1, Jug r 2, Jug r 3 e Jug r 4 della *J. Regia*. Tuttavia, nei database è disponibile la sequenza amminoacidica, ottenuta mediante cDNA, solo di quattro tra queste ovvero Jug n 1 (Q7Y1C2, albumina 2S), Jug n 2 (Q7Y1C1, vicilina 7S), Jug r 1 (P93198, albumina 2S) e Jug r 2 (Q9SEW4, vicilina 7S) ([www.expasy.org](http://www.expasy.org)).

In questo lavoro è stato determinato, mediante spettrometria di massa MALDI lineare, il profilo proteico dell'estratto antigenico delle noci di Sorrento. Le noci sono state pelate, quindi tritate e sottoposte ad un protocollo di allontanamento dei lipidi, prima di essere estratte in soluzione salina. Le proteine estratte sono state frazionate in funzione delle loro proprietà chimico-fisiche e direttamente analizzate mediante spettrometria di massa MALDI lineare.

L'uso dell'SDS-PAGE, combinato con la spettrometria di massa MALDI MS ha consentito l'identificazione e caratterizzazione di alcuni potenziali allergeni delle noci.

J. M. Robotham, S. S. Teuber, S. K. Sathe, K. H. Roux *Allergy Clin. Immunol.* **2002**, *109*, 143-149.

E. A. Pastorello, L. Farioli, V. Pravettoni, A. M. Robino, J. Scibilia, D. Fortunato, A. Conti, L. Borgonovo, A. Bengtsson, C. Ortolani *J Allergy Clin Immunol.* **2004**, *114*, 908-914.

A. Napoli, D. Aiello, L. Di Donna, P. Moschidis, G. Sindona *J. Proteome Res.* Published on Web 30/05/2008.

PR\_P69

## Identification and characterization of parvalbumin variants in the Rainbow Trout

*M. Capacchiotti\**, *D. Agas\**, *D. Aiello\*\*\**, *L. Marchetti\**, *S. Materazzi\*\**, *A. Napoli\*\*\**,  
*M. G. Sabbieti\**, *G. Sindona\*\*\**

\*Dipartimento di Scienze Morfologiche e Biochimiche Comparate,  
Università degli Studi di Camerino

\*\*Dipartimento di Chimica, "La Sapienza", ROMA

\*\*\*Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Arcavacata Rende

Parvalbumins are proteins relatively abundant in the sarcoplasmic fraction of the white fish muscle. They are thermo stable proteins with a molecular weight around 10–12 kDa, an *pI* in the range of 4.0–5.2 and two helix-loop-helix(EF-hand) motifs, which are involved in calcium-binding. These proteins are important for the relaxation/contraction cycle of the muscle fibers by soaking up free calcium. Besides biochemical implication, parvalbumins play an important role in food safety, as they have been described as major cross reactive allergens (induce Type-I allergy).

There are two distinct parvalbumin phylogenetic lineages, named  $\alpha$  and  $\beta$ . In the case of fish, most of the parvalbumin sequences belong to the  $\beta$  type. In the special case of family Salmonidae there are no entries in the protein databases for the *Trout* and especially for the *Rainbow Trout*, but only for codfish, salmon, frog and some other fish species.

Trout, however, is one of the fundamental baby-food ingredient and the characterization of its potential allergenic risk has to be determined.

In this research work we have applied the proteomics methodology to achieve the differential characterization of all the parvalbumin isoforms from the genus *Rainbow trout*, Family of Salmonidae, Class *Actinopterygi* (ray-finned fishes). We have applied 2-DE coupled with MALDI-TOF MS analysis, to characterize several different parvalbumin isoforms present in the natural matrix. By the comparison among the trout parvalbumin sequences, deduced by MS experiments, and the known available sequences from the other fish species, it has been possible to reconstruct the new variants of parvalbumin present in the trout.

T. Van Do, I. Hordvik, C. Endresen, S. Elsayed *Mol. Immunol.* **2003**, *39*, 595–602.

I. Swoboda, A. Bugajska-Schretter, P. Verdino, W. Keller, et al. *J. Immunol.* **2002**, *168*, 4576–4584.

M. Carrera, B. Cañas, C. Piñeiro, J. Vázquez, J. M. Gallardo *Proteomics* **2006**, *6*, 5278–5287.

# Caratterizzazione di *quantum dots* CdSe/ZnS mediante frazionamento in campo di flusso-flusso con rivelazione *multiangle laser scattering*

D. C. Rambaldi,\* A. Zattoni,\* P. Reschiglian,\* A. M. Coto-García,†  
J. M. Costa-Fernandez,† A. Sanz-Medel†

\*Dipartimento di Chimica “G. Ciamician”, Università di Bologna, V. Selmi 2, 40126 Bologna.

†Dipartimento di Chimica Fisica e Analitica, Università di Oviedo,  
Julian Clavería, 33006 Oviedo, Spagna.

I *quantum dots* (QD) sono nanoparticelle di materiale semiconduttore, di dimensioni comprese fra 1 e 10 nm, tipicamente costituite da un nucleo di CdS, CdSe o CdTe. Questi nanocristalli presentano peculiari proprietà di luminescenza, dovute a effetti di sconfinamento quantico, che prospettano per i QD interessanti applicazioni in campo biochimico.

Poiché i QD “nudi” sono soggetti a foto-ossidazione, è necessario rivestirli con uno strato protettivo (ad es. di ZnS). A causa del loro carattere idrofobico, che li rende incompatibili con gran parte delle applicazioni biochimiche, i QD devono essere sottoposti a modifiche superficiali che ne permettano la dispersione in fasi acquose preservandone le proprietà ottiche (1). La necessità di modificare la superficie dei QD e la dipendenza delle proprietà di luminescenza dalla loro dimensione rende cruciale il controllo della distribuzione dimensionale dei nanocristalli mediante metodi rapidi ed accurati di caratterizzazione morfologica delle nanoparticelle in dispersione acquosa. Il frazionamento in campo di flusso-flusso (flow field-flow fractionation, F4) è in grado di frazionare nanoparticelle disperse in base al loro raggio idrodinamico ( $r_H$ ) (2). La rivelazione *multiangle laser scattering* (MALS) consente la determinazione assoluta e non correlata della massa molare e del raggio di girazione ( $r_g$ ) delle particelle frazionate (3). Dal confronto tra i valori di  $r_g$  ottenuti dal MALS e i valori di  $r_H$  basati sulla F4, la F4-MALS fornisce informazioni su dimensioni, forma e distribuzione di massa (ad es. distribuzione *core-shell*) delle nanoparticelle.

Questo lavoro dimostra la capacità della F4-MALS di fornire un'accurata e rapida caratterizzazione dimensionale di QD direttamente dispersi in fase acquosa, informazione non altrimenti ottenibile mediante metodi diversi. La F4-MALS è stata impiegata in combinazione con la TEM (4), per la determinazione dello spessore totale di ricoprimento delle nanoparticelle. Viene infine messa in evidenza la stretta relazione esistente tra dimensione e proprietà ottiche dei QD.

1. M.T. Fernandez-Arguelles, A. Yakovlev, R.A. Sperling, C. Luccardini, S. Gaillard, A. Sanz-Medel, J.-M. Mallet, J.-C. Brochon, A. Feltz, M. Oheim, W.J. Parak, *Nanoletters* **2007**, 7, 2613.
2. S.K. Ratanathanawongs-Williams, in: *Field-Flow Fractionation Handbook*, M.E. Schimpf, K.D. Caldwell, J.C. Giddings, Eds. Wiley-Interscience, New York, **2000**, Chapter 17.
3. H. Thielking, D. Roessner, W.-M. Kulicke, *Anal. Chem.* **1995**, 67, 3229.
4. W. William, Yu, L. Qu, W. Guo, X. Peng, *Chem. Mater.* **2003**, 15, 2854.

## Studio della fibrillogenesi di peptidi $\beta$ -amiloidi mediante frazionamento in campo di flusso-flusso con rivelazione *multiangle laser scattering*

D. C. Rambaldi,\* A. Zattoni,\* P. Reschiglian,\* R. Colombo,† E. De Lorenzi†

\*Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università di Bologna, V. Selmi 2, 40126 Bologna.

†Dipartimento di Chimica Farmaceutica, Università di Pavia, viale Taramelli 12, Pavia.

I depositi fibrillari tipici delle amiloidosi neurodegenerative, quali la malattia di Alzheimer (Alzheimer's disease, AD), sono principalmente costituiti da proteina  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ), derivante dalla proteolisi di una proteina precursore. In particolare, il peptide di 42 aminoacidi  $A\beta_{1-42}$ , normalmente espresso nel cervello umano e presente in condizioni fisiologiche nel plasma e nel liquido cerebrospinale, riveste un ruolo cruciale nell'eziologia di AD. La formazione delle placche avviene mediante un processo di polimerizzazione per nucleazione, nel quale i monomeri di  $A\beta_{1-42}$  si auto-assemblano in intermedi oligomerici che costituiscono una popolazione eterogenea di aggregati globulari. La natura metastabile e la struttura non covalente di tali oligomeri rendono particolarmente difficile la caratterizzazione del processo di nucleazione-accrescimento, fino alla formazione delle fibrille. L'elettroforesi capillare (CE) è stata impiegata per l'identificazione e la separazione ad alta risoluzione degli aggregati solubili, che sono i principali responsabili della neurotossicità (1). Il campo applicativo di questa tecnica non è tuttavia in grado di coprire l'intero processo di fibrillogenesi, caratterizzato nella sua fase finale dalla formazione di materiale insolubile che porta alla definitiva deposizione della fibrilla. Il frazionamento in campo di flusso-flusso (*Flow Field-Flow Fractionation*, F4) è in grado di frazionare analiti di altissima massa molare ( $M_r$ ) in dispersione, in base al loro raggio idrodinamico ( $r_H$ ), e la rivelazione *Multiangle Laser Scattering* (MALS) consente la determinazione assoluta e non correlata della  $M_r$  e del raggio di girazione ( $r_g$ ) delle macromolecole frazionate (2). Dal confronto tra i valori di  $r_g$  ottenuti dal MALS e i valori di  $r_H$  basati sulla F4, la F4-MALS fornisce informazioni sia dimensionali sia conformazionali sugli analiti.

In questo lavoro è stato monitorato mediante F4-MALS il processo di aggregazione di  $A\beta_{1-42}$  in soluzione acquosa, dalla formazione dei primi oligomeri solubili fino alla comparsa di specie insolubili ad altissima  $M_r$ . I risultati hanno mostrato la formazione, a brevi tempi di aggregazione, di specie a  $r_H \sim 5$  nm che si possono identificare con le specie di  $M_r \sim 60$  kDa riportate in letteratura (3) ed evidenziabili anche in CE. A tempi di polimerizzazione  $>48$  h la F4-MALS ha permesso inoltre di rivelare e monitorare nel tempo la formazione di aggregati di dimensioni molto maggiori. Nell'ipotesi che tali specie siano fibrille, dal loro  $r_g$  risulterebbe una lunghezza media di 1.5  $\mu$ m, valore compatibile con dati di letteratura ottenuti mediante microscopia a forza atomica (4). Si dimostra quindi la capacità della F4-MALS di monitorare l'evoluzione delle specie prefibrillari e fibrillari di  $A\beta_{1-42}$ , e di fornire mazioni qualitative e quantitative sui relativi aggregati.

1. S. Sabella, M. Quaglia, C. Lanni, M. Racchi, S. Govoni, G. Caccialanza, A. Calligaro, V. Bellotti, E. De Lorenzi. *Electrophoresis* **2004**, *25*, 3186-3194.
2. H. Thielking, D. Roessner, W.-M. Kulicke, *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3229.
3. D.M. Walsh, D.J. Selkoe, *J. Neurochem.* **2007**, *101*, 1172-1184.
4. M. Arimon, I. Diez-Perez, M.J. Kogan, N. Durany, E. Giralt, F. Sanz, X. Fernandez-Busquets. *FASEB J.* **2005**, *19*, 1344-1346.

# Quantificazione assoluta di proteine target mediante tecniche di spettrometria di massa MALDI-TOF e LC/ESI con triplo quadrupolo

*C. Cavaliere, E. Corradini, R. Samperi, A. Laganà*

Dipartimento di Chimica, Sapienza Università di Roma, Piazzale Aldo Moro 5, 00185 Roma  
chiara.cavaliere@uniroma1.it

Una delle sfide più interessanti della ricerca scientifica è l'identificazione e la quantificazione di marcatori biologici che consentano di diagnosticare precocemente l'insorgenza di patologie, permettendo così interventi terapeutici immediati. In questo campo, la proteomica quantitativa, sia relativa sia assoluta, riveste un ruolo fondamentale. Tuttavia, solo la quantificazione assoluta delle proteine può consentire la comprensione dei complessi meccanismi biologici che sono alla base delle diverse patologie<sup>1</sup>. Attualmente l'analisi quantitativa assoluta rappresenta un limite nella proteomica, a causa della complessità dei campioni biologici e delle diverse caratteristiche chimico-fisiche delle proteine. Anche i più recenti metodi basati sulla misura mass-spettrometrica di peptidi marcati isotopicamente consentono solo la quantificazione relativa tra profili proteici<sup>2</sup>.

Nella presente ricerca è stata sviluppata una metodologia analitica basata sia sulla spettrometria di massa matrix assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF), sia sulla cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa tandem con sorgente elettrospray (LC/ESI-MS/MS), al fine di effettuare la quantificazione assoluta dell'isoforma T della troponina cardiaca (cTnT) in cuori di topo (*Mus musculus*).

La proteina cTnT è stata scelta poiché è considerata un biomarcatore particolarmente sensibile e selettivo per la diagnosi dell'infarto miocardico acuto nel siero. Tuttavia, la determinazione della cTnT direttamente in campioni di tessuto cardiaco potrebbe rappresentare un valido strumento diagnostico e prognostico per diverse patologie cardiache. La cTnT è stata estratta selettivamente dal tessuto cardiaco di topi sani, isolata mediante cromatografia in fase inversa, idrolizzata con tripsina e analizzata con le tecniche MALDI-TOF/MS e LC/ESI-MS/MS. Per effettuare l'analisi quantitativa è stata costruita una curva di calibrazione in matrice, utilizzando come riferimento (Rif) un peptide di sintesi che riproduce la sequenza di un frammento triptico della cTnT e aggiungendo un altro peptide di sintesi, che differisce solo per un amminoacido dal Rif, come standard interno. Il metodo proposto permette di effettuare la quantificazione assoluta della cTnT senza ricorrere all'impiego di peptidi marcati isotopicamente, spesso difficili da sintetizzare e molto costosi. Inoltre la metodologia sviluppata può essere applicata anche alla determinazione di altre proteine di interesse.

*Si ringraziano l'Agenzia Spaziale Italiana (progetto AGEMPROS) e il MiUR (progetto PRIN 2006) per aver cofinanziato la ricerca.*

Silva, J. C.; Gorenstein, M.V.; Li, G. Z.; Vissers, J. P. C.; Geromanos, S. J. *Mol. Cell. Proteom.* **2006**, *5*, 144-156.

Sechi, S. *Quantitative Proteomics by Mass Spectrometry. Methods in Molecular Biology Series*. Humana Press: Totowa (NJ, USA), **2007**, 359.

# Metodologia multidimensionale per l'identificazione su larga scala di fosfopeptidi

*F. Cucci, P. Sacchetti, R. Samperi, A. Laganà*

Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza" di Roma  
francesca.cucci@uniroma1.it

Il processo di fosforilazione a livello del proteoma costituisce una delle modifiche post-traduzionali più importanti e frequenti tanto che la maggior parte dei processi cellulari è regolata da meccanismi reversibili di fosforilazione sugli aminoacidi serina, treonina e tirosina<sup>1</sup>.

Nonostante la fosforilazione avvenga frequentemente, l'abbondanza di ogni singola proteina fosforilata è molto scarsa e la caratterizzazione dell'intero fosfoproteoma è tutt'ora molto difficile da ottenere. Questo è essenzialmente dovuto alla mancanza di metodi efficienti per la purificazione, rivelazione e caratterizzazione dei peptidi fosforilati a partire da campioni biologici complessi<sup>2</sup>. Le strategie di identificazione maggiormente utilizzate prevedono una prima fase di separazione multidimensionale dell'estratto proteico (cromatografia di scambio cationico (SCX) ed anionico<sup>1</sup>, immunoprecipitazione<sup>3</sup>, cromatografia di affinità con ioni metallici immobilizzati (IMAC)<sup>4</sup>, cromatografia al biossido di titanio (TiO<sub>2</sub>)<sup>5</sup>, etc) seguita da identificazione mediante tecniche di spettrometria massa tandem (MS/MS). La MS/MS riveste un ruolo indispensabile nella identificazione su larga scala delle proteine fosforilate perché presenta le adeguate caratteristiche di sensibilità e selettività per la rivelazione di peptidi modificati covalentemente.

In questo studio è presentata una metodologia semplice ed innovativa per il riconoscimento di un ampio numero di fosfopeptidi a partire da una piccola quantità di campione biologico. Il metodo proposto prevede quattro passaggi. Il primo consiste nel prefrazionamento dell'estratto cellulare, già sottoposto a digestione enzimatica, mediante cromatografia SCX. Successivamente ogni frazione viene sottoposta ad eluizione sequenziale da IMAC (SIMAC)<sup>4</sup>. Il SIMAC è in grado di eluire a pH acidi i peptidi monofosforilati, e a pH basici i peptidi multifosforilati che, solitamente, non vengono identificati a causa delle basse concentrazioni. Il terzo passaggio prevede la rimozione dei contaminanti non fosforilati mediante cromatografia su TiO<sub>2</sub>. Infine le frazioni vengono analizzate mediante nanocromatografia liquida-spettrometria di massa tandem (con sorgente elettrospray) applicando la tecnica di frammentazione per trasferimento elettronico (ETD). Al fine di aumentare lo stato di carica dei peptidi, è stato inoltre testato l'uso dell'alcool m-nitrobenzilico come additivo nelle fasi mobili cromatografiche al fine di ottenere una maggiore efficienza di frammentazione che comporta una maggiore confidenza nell'identificazione proteica. Il metodo è stato prima testato su una miscela standard di proteine e successivamente su un estratto di cellule staminali umane.

*Si ringrazia il MiUR (progetto PRIN 2006) per aver cofinanziato la ricerca.*

1. Lim K.B.; Kassel D. B. *Anal. Biochem.* **2006**, 354, 213-219.
2. Kokubu M.; Ishihama Y.; Sato T.; Nagasu T.; Oda Y. *Anal. Chem.* **2005**, 77, 5144-5154.
3. Zhang Y.; Wolf-Yadlin A.; Ross P.L.; Pappin D.J.; Rush J.; Lauffenburger D.A.; White F.M. *Mol. Cell. Proteomics* **2005**, 4, 1240-1250.
4. Thingholm T.E.; Jensen O.N.; Robinson P.J.; Larsen M.R. *Mol Cell Proteomics* **2008**, 7, 661-671.
5. Thingholm T.E.; Jørgensen T.J.D.; Jensen O.N.; Larsen M.R. *Nature Protocols* **2006**, 1, 1929-1935

## Presenza di antibiotici in omogeneizzati. Limiti di sensibilità

*P. Chiaromonte, C. De Bernardis, M.R. Festa, V. Rampino*

Dipartimento di Chimica, S. Cannizzaro, Università “La Sapienza”, P.le A.  
Moro 5, 00185 Roma

Precise normative nazionali e comunitarie vietano la commercializzazione di alimenti contenenti antibiotici la cui assunzione soprattutto da parte di bambini ed anziani sarebbe certamente dannosa. La legge impone nello stesso tempo limiti di accettabilità differenti a secondo degli alimenti. L'alimentazione mediante omogeneizzati è oggi diffusa non solo per i bambini, ma spesso risulta comoda anche per le persone anziane. Gli antibiotici che sono impiegati in campo veterinario più diffusamente sono: penicilline (ampicillina, amoxicillina, penicillina G, dicloxacillina), tetracicline (clorotetraciclina, oxitetraciclina, doxicillina), cefalosporine (cefradina, cefotassima) e sulfamidici (trimetoprim, sulfametazina). Sono stati oggetto di indagine campioni di carne tritata ed omogeneizzati di carne bovina, di carne di pollo, di pesce e di frutta. Per ciascuno i limiti consentiti dalla legge sono differenti e per questo motivo sono stati tentati approcci con metodi differenti. Per la carne, la normativa degli antibiotici prevede limiti che vanno da 50 ppb ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) per amoxicillina e ampicillina, fino a 300 ppb per tutti gli altri. Per i sulfamidici è previsto una concentrazione massima di 100 ppb. Insieme alla cromatografia HPLC, con rivelatori differenti, che sembra intuitivamente il metodo più adatto, sono stati espletati alcuni tentativi con la cromatografia ionica con rivelatore elettrochimico e con la polarografia. Per quello che riguarda la polarografia, applicando la DP 50, si osserva una sensibilità generalmente molto più bassa rispetto a quanto si vedrà per l'analisi HPLC. Si possono ottenere comunque picchi distinti per tutti i composti presi in considerazione con altezze proporzionali alle concentrazioni. Tuttavia andando a determinare il LOD, si ottengono risultati molto più alti (dell'ordine dei 10 ppm) eccetto che per i sulfamidici per i quali anche 300 ppb danno un picco distinto. Più complicato si presenta il quadro operando nelle diverse matrici. I limiti diventano più elevati, arrivando circa a 70 ppm per gli antibiotici. Per quello che riguarda l'analisi HPLC, è stato usato un apparecchio Varian 9010 con pompa ternaria, un loop da 20  $\mu\text{l}$ , una colonna Alltima C18 da 3 $\mu$ , 150 mm, diametro 4,6 mm, collegato ad un rivelatore spettrofotometrico. E' stata anche usata la cromatografia ionica con un apparecchio Dionex, dotato di rivelatore elettrochimico (IPAD = integrated pulsed amperometric detector). L'analisi HPLC era eseguita in isocratica, usando come eluente una miscela di soluzione di acido acetico (dil. 35 /65) e acetonitrile nel rapporto 93 /7 (v/v). Il rivelatore spettrofotometrico connesso con l'uscita della colonna cromatografica era Unicam Italia mod. 4225 UV detector. Era fissato a  $\lambda = 270$  nm. Anche usando il cromatografo Dionex, l'analisi era condotta in isocratica con acetonitrile; metanolo; acqua; tampone acetato (a pH = 3,75), per le penicilline nel rapporto (6,7; 0; 73,3; 20); per le cefalosporine (4,4; 0; 75,6; 20); per i sulfamidici (10; 10; 60; 20). Per le tetracicline era necessario, pur operando in isocratica, usare acetonitrile, metanolo, 0,1 mol  $\text{dm}^{-3}$  di acetato di ammonio nel rapporto (55, 22, 23 v/v). Il flusso di eluizione era sempre di 1 ml  $\text{min}^{-1}$ . Veniva impostato un opportuno programma di rivelazione elettrochimica. Per un confronto fra le tecniche si riportano alcuni cromatogrammi a titolo di esempio.



Fig. 1. HPLC Amoxicillina 9 ppm

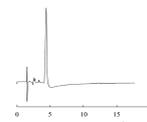


Fig. 2. Amoxicillina 9 ppm, Riv. Elettrochimico

# Studio di processi di marcatura di anticorpi con metalli per l'impiego in saggi immunoenzimatici con rivelazione ICP-MS

M. Terenghi, L. Elviri, M. Careri, A. Mangia

Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università degli Studi di Parma, V.le Usberti 17/A, 43100, Parma

La spettrometria di massa con l'avvento delle sorgenti ESI e MALDI è divenuta una tecnica di consolidata importanza per l'analisi delle biomolecole a scopi sia qualitativi sia quantitativi. Più recentemente, si è assistito all'impiego di sorgenti ICP per l'analisi quali- e quantitativa di metalloproteine o di modificazioni post-traduzionali. I vantaggi di elevata sensibilità, semplicità spettrale, assenza di effetti matrice ed elevata precisione di questa sorgente hanno anche portato allo sviluppo di metodi immunoenzimatici con rivelazione ICP-MS mediante impiego di anticorpi marcati con metallo (1-3). I risultati sono risultati particolarmente promettenti sia in termini di sensibilità (concentrazione di proteina rivelata <ng/L) che di possibilità di effettuare analisi multi-tag, superando i limiti attuali della fluorescenza (1,4). Nel presente lavoro sono stati valutati tre diversi protocolli di marcatura al fine di ottenere reagenti specifici per l'analisi ICP-MS che presentassero al contempo un'elevata stechiometria Ab:metallo e la ritenzione dell'attività biologica dell'anticorpo stesso. In particolare, sono stati seguiti i seguenti protocolli: 1) marcatura mediante N-idrossisuccinimidil DTPA, 2) marcatura delle lisine mediante N-Succinimidil-S-acetylthioacetate e polimero DOTA, 3) marcature mediante bismaleimide dei gruppi -SH delle cisteine e polimero DOTA. Sono state valutate le condizioni di temperatura, tempi di reazione e concentrazione dei reagenti. L'avvenuto processo di marcatura degli anticorpi è stato monitorato mediante gel SDS-PAGE monodimensionale. I risultati hanno evidenziato il progressivo grado di marcatura degli Ab in tutti e tre i processi di derivatizzazione in funzione del rapporto stechiometrico Ab:legante. Infine, l'attività biologica degli anticorpi marcati con le tre diverse procedure è stata verificata mediante saggio ELISA con rivelazione ICP-MS. In tutti i casi, i test sono stati effettuati utilizzando una concentrazione di anticorpi marcati con metallo pari a 5 ppm, un controllo negativo per valutare l'interazione aspecifica e tre livelli di concentrazione di analita (5, 10 e 25 ppm) per valutare la crescita nell'intensità del segnale.

I risultati più promettenti sono stati ottenuti con gli anticorpi monoclonali marcati con N-idrossisuccinimidil DTPA e in particolare è stata osservata una buona linearità di risposta con una bassa risposta aspecifica per gli anticorpi marcati con un rapporto molare Ab:DTPA di 1:160.

*Il lavoro è stato realizzato con il contributo del MIUR: progetto PRIN 2006 "Integration of innovative separation and mass spectrometry methods for a next generation proteomics".*

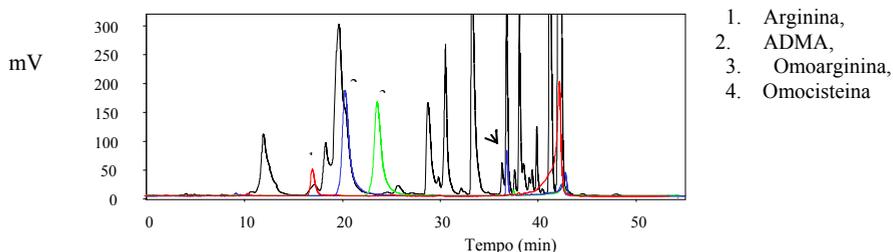
- (1) M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, C. Mucchino, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 387, 1851.
- (2) M. Careri, L. Elviri, M. Maffini, A. Mangia, C. Mucchino, M. Terenghi, *Rapid Commun Mass Spectrom.* **2008**, 22, 807.
- (3) M. Careri, L. Elviri, A. Mangia, C. Mucchino, M. Terenghi, W. Becker, *J. Agric. Food Chem.* **2008**, inviato per la pubblicazione.
- (4) X. Lou, G. Zhang, I. Herrera, R. Kinach, O. Ornatsky, V. Baranov, M. Nitz, M. Winnik, *Angew Chem Int Ed Engl.* **2007**, 46, 6111.

## Dosaggio di aminoacidi indicanti fattori di rischio in pazienti uremici

P. Chiaromonte, C. De Bernardis, M.R. Festa, V. Rampino

Dipartimento di Chimica, S. Cannizzaro, Università “La Sapienza”, P.le A. Moro 5, 00185 Roma

La presenza di particolari composti chimici nel sangue o in liquidi biologici può influire sul funzionamento degli organi vitali di un individuo. Alcuni aminoacidi come l'arginina, vengono rilasciati dall'endotelio come vasoattivi e regolano la pressione del sangue. Un agente che possiede queste caratteristiche è il labile fattore umorale derivato dal fattore endoteliale di rilascio (EDRF), ora identificato come l'ossido di azoto. Questo composto sembra derivare dall'azoto del gruppo guanidino dell'arginina. Recentemente è stato trovato che l'arginina ed i suoi derivati si accumulano nel plasma di pazienti con malattie renali. L'analisi qualitativa e quantitativa dell'arginina e dei suoi derivati metilarginina, e dimetilarginina simmetrica (SDMA) ed asimmetrica (ADMA) rappresentano un problema per diagnosi e prevenzioni nelle malattie cardio – vascolari e nei problemi renali dei pazienti sottoposti ad emodialisi. A tale scopo si usa la cromatografia HPLC. Il campione di plasma viene purificato e derivatizzato con o-ftalaldeide (OPA) in metanolo a pH = 10,5. I composti derivatizzati, sono iniettati, eluiti in colonna e rivelati mediante fluorescenza. In questo lavoro da una parte sono state realizzate le migliori condizioni di derivatizzazione e di separazione cromatografica HPLC usando un rivelatore fluorimetrico e da un'altra è stato tentato un procedimento meno sofisticato. E' stato effettuato un tentativo di usare la cromatografia ionica, usando una eluizione in gradiente in ambiente acido e in ambiente alcalino, collegando l'uscita della colonna con un rivelatore elettrochimico, scegliendo il migliore programma di rivelazione. Confrontando i procedimenti si notano differenze, analogie, vantaggi o svantaggi. In generale HPLC - fluorescenza ha dato risultati migliori come LOD e LOQ. E' possibile determinare fino a qualche ppb ( $=\mu\text{g}/\text{L}$ ) di aminoacido. La cromatografia ionica, con la possibilità di operare in soluzioni molto acide o alcaline, è in grado di analizzare più composti, ma con LOD e LOQ generalmente superiori rispetto a quelli del rivelatore a fluorescenza. Tuttavia non maggiori di 100 ppb. In particolare con HPLC -fluorescenza si ottengono picchi per omoarginina, arginina, omocisteina, ADMA e SMDA, che però non sono separati molto bene. Con la cromatografia ionica in eluizione acida si ha invece il vantaggio di rivelare solo gli aminoacidi solforati, in particolare l'omocisteina. Considerando l'importanza dei risultati viene comunque preso in esame il quadro completo degli aminoacidi che saranno analizzati con l'uno e l'altro procedimento. Questo lavoro rappresenta un primo passo per l'analisi di plasma sanguigno, per la ricerca e la determinazione dell'arginina, la dimetilarginina simmetrica (SDMA) ed asimmetrica (ADMA) e l'omocisteina. La conoscenza dei rapporti fra le loro concentrazione sembra poter dare un responso agli effetti delle malattie cardiocircolatorie per i pazienti in dialisi. In figura è presentato un cromatogramma HPLC -fluorescenza di un campione di plasma. I picchi numerati si riferiscono agli standard il cui cromatogramma è stato sovrapposto. Uno studio sistematico, oltre che collezionare dati per un confronto fra pazienti sani e sofferenti, potrebbe fornire altri parametri significativi agli effetti di una diagnosi di fattori di rischio.



## **Sviluppo di un nuovo biosensore, operante in solvente organico, per la determinazione dell'etanolo**

*L. Campanella, G. Spuri Capesciotti, T. Gatta, M. Tomassetti*

Dipartimento di Chimica, Università di Roma La Sapienza, P.le Aldo Moro, 5, 00185 Roma

Lo scopo di questo lavoro di ricerca è stato la realizzazione di un nuovo biosensore per la determinazione di etanolo contenuto in liquidi, o solventi organici, come ad esempio le benzine verdi.

Ciò è stato reso possibile dal fatto che recentemente sono stati sviluppati biosensori enzimatici capaci di operare anche in solventi organici, i cosiddetti OPEE (Organic Phase Enzyme Electrodes); essi costituiscono una nuova classe di biosensori e possono essere impiegati in tutti quei casi in cui devono essere analizzate matrici insolubili, o scarsamente solubili in ambiente acquoso.

Il nuovo biosensore sviluppato è inoltre molto particolare, è infatti un OPEE “a competizione di substrato”, in cui l'enzima, la catalasi, è stato accoppiato a un elettrodo tipo Clark, cioè un elettrodo amperometrico a diffusione gassosa per l'ossigeno.

Questo biosensore si basa su due reazioni di ossidazione in parallelo, catalizzate entrambe dallo stesso enzima, la catalasi, in presenza del medesimo idroperossido (tert-butilidroperossido, o idroperossido di cumene). Nella prima reazione l'enzima catalasi catalizza, in decanolo, una reazione di ossidazione in presenza dell'idroperossido, che comporta una variazione della concentrazione dell'ossigeno in soluzione. Nella seconda reazione, invece, la catalasi catalizza una reazione in cui l'idroperossido ossida l'etanolo (l'analita da determinare) ad acetaldeide. Questa seconda reazione compete quindi con la prima per il substrato. Ciò comporta un parziale ripristino dell'iniziale concentrazione di  $O_2$  nella soluzione, poiché l'idroperossido presente prende ora parte contemporaneamente a due reazioni; rallenta quindi la velocità con cui varia la concentrazione di  $O_2$  a causa della sola prima reazione. L'entità di questo “ripristino” viene misurata per mezzo dell'elettrodo di Clark e viene posta in relazione con la concentrazione dell'etanolo presente, tramite costruzione di un'opportuna retta di calibrazione.

Il biosensore così ottenuto, dopo ottimizzazione, si è dimostrato molto sensibile e abbastanza selettivo verso l'etanolo.

I primi risultati ottenuti mostrano che è possibile utilizzare questo metodo biosensoristico per la determinazione del contenuto di etanolo delle benzine verdi. I dati analitici, ottenuti operando su questi campioni, hanno confermato che le misure risultano sufficientemente rapide e precise e che inoltre, i campioni reali esaminati, non devono essere pretrattati, essendo al massimo sufficiente una semplice diluizione con lo stesso solvente (decano) utilizzato poi come mezzo in cui viene condotta l'analisi biosensoristica.

## A bioluminescent imaging based in vivo model for preclinical testing of potential drugs for Acute Myeloid Leukemia

*L. Mezzanotte*<sup>\*</sup>, *R. Fazzina*<sup>†</sup>, *E. Michelini*<sup>\*</sup>, *A. Pession*<sup>†</sup>, *R. Tonelli*<sup>†</sup>,  
*A. Roda*<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Department of Pharmaceutical Sciences, University of Bologna, Bologna, Italy

<sup>†</sup>Department of Paediatrics, University of Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Italy.

The preclinical pharmacological screening of novel drugs useful for the treatment of Acute Myeloid Leukemia needs the development of predictive xenograft murine models allowing the quantitative real time monitoring of tumor progression and the effect of therapy. Bioluminescent in vivo imaging seems to be a powerful tool for preclinical testing due to the combination of sensitivity (early detection), precision in the localization and quantitation of tumor in live animal with a reduction of sacrificed mice.

In this study an acute myeloid leukaemia cell line stably expressing green WT luciferase from *Photinus pyralis* was intravenously injected in immunodeficient mice. This cell line is able to generate leukaemia-like tumor in NOD/SCID mice after injection of at least  $1 \times 10^6$  cells. Leukemia cell clones expressing WT luciferase were developed using retroviral vector technology. Three cell clones were selected for their high photon emission and injected in mice at different concentration. After injection of  $5 \times 10^6$  cells, tumor progression was monitored every weeks by intraperitoneal injection of luciferin at a concentration of 150mg/Kg body weight in anaesthetized mice. Light emission was detected and imaged using a luminograph equipped with an ultrasensitive cooled and back-illuminated CCD camera. Analysis of the luminescent images by a suitable image analysis software allowed tumor localization. Sequential imaging of the experimental animals during several weeks permitted to evaluate the kinetics of tumor progression. Such results indicate that this new model allows convenient and sensitive real-time monitoring of leukemia-like tumors in immunodeficient mice, thus enabling preclinical testing of novel drugs for Acute Myeloid Leukemia.

Klerk CP *et al.*, *Biotechniques*. **2007** Jul;43(1 Suppl):7-13, 30. *Review*.

Rettig GR *et al.*, *Anal Biochem*. **2006**, Aug 1;355(1):90-4.

Edinger M *et al.*, *Eur J Cancer*. **2002**, Nov;38(16):2128-36. *Review*.

## Monitoraggio non invasivo di terapie anticoagulanti orali

L. Murgia,<sup>\*</sup> S. Ghimenti,<sup>\*</sup> M. Onor,<sup>†</sup> A. Paolicchi,<sup>‡</sup> F. Di Francesco<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dip. Chimica e Chim. Ind.- Università di Pisa, Via del Risorgimento, 35 – 56126 Pisa

<sup>†</sup>Istituto per i Processi Chimico-Fisici – CNR, Pisa

<sup>‡</sup> Dipartimento di Patologia Sperimentale BMIE, sez. Patologia Generale e Clinica – Università di Pisa

Il warfarin è un farmaco che agisce riducendo la capacità di coagulazione del sangue largamente utilizzato per la cura e prevenzione delle malattie trombotiche. Esso presenta però un indice terapeutico ristretto, per cui piccole variazioni della dose possono avere gravi conseguenze: una dose bassa può non avere effetti terapeutici, una alta può causare emorragie anche consistenti [1]. Variazioni nelle concentrazioni plasmatiche del farmaco possono essere indotte nei diversi individui da molti fattori per cui trovare e mantenere un dosaggio adeguato non è facile. I rischi associati a questa terapia rendono necessario un monitoraggio costante del paziente, il che comporta la necessità di prelievi ematici frequenti con ovvie conseguenze sulla qualità della vita. La somministrazione è regolata di volta in volta sulla base dell'effetto anticoagulante ottenuto, valutato in laboratorio attraverso un test standard della coagulabilità del sangue (International Normalized Ratio, INR).

E' nota la possibilità di scambi tra i compartimenti sangue e sudore (o saliva), separati dal solo epitelio ghiandolare, che può essere attraversato per diffusione passiva nel caso in cui dimensioni molecolari, costanti di dissociazione e liposolubilità lo consentano [2,3]. Il monitoraggio della concentrazione di warfarin nel sudore o nella saliva offre potenzialmente due grandi vantaggi: 1) ridotta o non invasività del prelievo; 2) possibilità di monitorare selettivamente la frazione libera del farmaco cioè quella che dà luogo ad effetti terapeutici (circa il 99% del farmaco presente nel sangue è invece legato all'albumina), permettendo, in caso di sotto- o sovra-dosaggio, di modificare la posologia del farmaco prima che si verifichino alterazioni pericolose dell'effetto terapeutico. In questo lavoro è illustrata l'attività svolta per mettere a punto una metodica di campionamento del sudore e di analisi HPLC del warfarin e suoi metaboliti in soluzioni acquose. Sono inoltre presentati i risultati delle analisi sui primi campioni ottenuti da volontari.

1. B.G Katzung, *Basic & Clinical Pharmacology*, McGraw Hill **2007**;
2. W.J. Jusko, R.L. Milsap, *Annals New York Academy of Science*, **1993**, 694, 34-47.
3. D.A. Kidwell, J.C. Holland, S. Athanaselis, *Journal of Chromatography B*, **1998**, 713, 111-135.

## Monitoraggio della degradazione del materiale cartaceo mediante biosensore al glucosio

*L. Micheli, A. Radoi, F. Barbante, D. Moscone, G. Palleschi*

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università di Roma Tor Vergata

In questo lavoro vengono proposte le basi per la realizzazione di un sistema di monitoraggio continuo e rapido e, soprattutto, non-invasivo dello stato di conservazione del materiale cartaceo mediante misure di glucosio. Quest'ultimo, infatti, rappresenta il prodotto principale della rottura del legame  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glicosidico che avviene ad opera delle  $\beta$ -glucosidasi. Questo fenomeno prende il nome "cellulosolisi", ed avviene per opera del complesso enzimatico "cellulasi" prodotte da alcuni funghi, tra i più comuni l'*Aspergillus niger* e *Trichoderma reesei*.

Lo scopo di questo studio è stato quello di "modellare" un sistema basato sulla realizzazione di un biosensori elettrochimico per la determinazione "on-line" del glucosio [1] prodotto dall'idrolisi enzimatica del cellubiosio, prodotto dell'attacco enzimatico delle cellulasi sulla cellulosa e, inoltre, fattore limitante della loro stessa attività enzimatica, sviluppato nel 1989 ad un substrato complesso, come la carta, sfruttando le nuove proposte del campo elettrochimico, come gli elettrodi "usa e getta" stampati in sistemi in flusso che consentono di analizzare in continuo un elevato numero di campioni in un breve lasso di tempo.

Si è pensato, quindi, di misurare per la prima volta la quantità di glucosio prodotto dall'attacco enzimatico della cellulase prodotta da due fonti diverse, dal fungo *Trichoderma reesei* e dall'*Aspergillus niger*, come stima della degradazione della cellulosa presente in diversi materiali cartacei (carta pergamena, carta protocollo, carta da filtro, carta da giornale, carta velina, carta da fotocopia, carta da disegno), reperibili in qualunque cartoleria o giornalaio. Per il monitoraggio del glucosio prodotto dall'attacco enzimatico è stato, quindi, utilizzato, per la prima volta, un biosensore monouso per il glucosio, basato sull'uso dell'enzima glucosio ossidasi (GOD, EC 1.1.3.4) immobilizzato su un elettrodo stampato (SPE – screen printed electrode) modificato con il Blu di Prussia. Il monitoraggio è stato effettuato inserendo il biosensore in un sistema in flusso (FIA) in modo da poter monitorare la reazione di degradazione enzimatica della carta in continuo, applicando all'elettrodo di lavoro un potenziale pari a  $-50$  mV vs Ag/AgCl e registrando il segnale analitico. L'idrolisi enzimatica dei suddetti materiali cartacei è stata effettuata utilizzando cellulasi disponibili commercialmente provenienti da due fonti fungine, *Trichoderma reesei* ed *Aspergillus niger*. Inoltre è stata anche valutata un'eventuale sinergia nell'azione enzimatica fra le due cellulasi. Sono stati valutati anche i parametri operativi per l'idrolisi enzimatica, in termini di tempo dell'attacco enzimatico, temperatura e tampone di lavoro tali da simulare il più possibile le condizioni reali di crescita di funghi *T. reesei* e *A. niger* e di degradazione enzimatica da loro provocata. Come substrato di riferimento per l'ottimizzazione dei parametri operativi è stata utilizzata la microcellulosa cristallina.

1. M. Mascini, M. Pizzichini, D. Moscone, R. Pilloton, "On-line determination of glucose produced by hydrolysis of cellobiose realised with a cellular bioreactor", Communications to the Editor, Biotechnology and bioengineering vol.34, p. 262-264

*Questo lavoro è stato svolto nell'ambito di una tesi della laurea triennale del Corso di Laurea in METER (Facoltà di Lettere e Filosofia) dell'Università di Roma "Tor Vergata".*

# Determinazione colorimetrica di omocisteina mediante derivatizzazione con nanoparticelle di oro stabilizzate con polistirensolfonato di sodio

*A. Guerrieri, R. Ciriello, G. Fratantuono*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Via N. Sauro 85 – 85100 Potenza  
(e-mail: antonio.guerrieri@unibas.it)

L'impiego di nanoparticelle di oro (GNP) nella bioanalisi suscita notevole interesse in virtù della elevata area superficiale che conferisce loro una notevole reattività e delle proprietà ottiche fortemente dipendenti dalla dimensione delle particelle nonché dalla distanza inter-particella. Le GNP hanno coefficienti di estinzione di circa 3 ordini di grandezza superiori rispetto ai comuni coloranti organici. La banda di assorbimento caratteristica della dispersione colloidale (risonanza di plasmon superficiale) subisce uno shift verso lunghezze d'onda più elevate in seguito ad aggregazione. Il processo di aggregazione può essere indotto, ad esempio, da amminoacidi in possesso di gruppi funzionali aggiuntivi rispetto al gruppo  $\alpha$ -ammino (ammine, imidazoli, tioeteri o tioli) [1]. Tale peculiarità sta alla base di metodiche analitiche, di certo non specifiche, per la rivelazione colorimetrica di diversi amminotioili [2]. Di recente l'uso di GNP rivestite con un fluorosurfatante nonionico ha consentito la determinazione di omocisteina e cisteina, essendo altre biomolecole quali glutazione, cisteinglicina e glucosio incapaci di indurre aggregazione [3]. Da ciò si intuisce che per poter ottenere una certa selettività in questo tipo di rivelazione è indispensabile stabilizzare al meglio le GNP giacché l'analita per indurre il processo di aggregazione deve spostare l'anione adsorbito sulla superficie colloidale.

A tale scopo, in questo lavoro di ricerca si è studiata l'aggregazione, indotta da omocisteina, di GNP stabilizzate mediante polistirensolfonato di sodio. A differenza di surfatanti, o più in generale di polimeri, non ionici l'impiego di un polielettrolita comporta una stabilizzazione maggiore in quanto di natura elettrosterica, ovvero allo stesso tempo elettrostatica e sterica. È stato condotto uno studio di ottimizzazione delle variabili sperimentali che influenzano la cinetica di aggregazione e cioè pH e forza ionica del tampone. Quindi si è analizzata la selettività della rivelazione colorimetrica notando come il processo di aggregazione avvenga, seppur con una cinetica più lenta, anche per omocistina, cisteina e cistina. Il glutazione, pur possedendo al suo interno la cisteina, non induce aggregazione probabilmente per motivi dimensionali. Non si è osservata aggregazione anche nel caso di amminoacidi quali la lisina aventi gruppi funzionali aggiuntivi diversi dal tiolo o di composti tiolici quali l'1-6esanditiolo. Data la rapidità di rivelazione si prevede in futuro di accoppiare la metodica messa a punto alla CE per la determinazione e separazione di Hcys e Cys in campioni reali previa derivatizzazione on column.

1. Zhong, Z.Y.; Patskovsky, S.; Bouvrette, P.; Luong, J.H.T.; Gedanken, A.J. *J. Phys. Chem.* **2004**, 108, 4046-4052.
2. Zhang, F.X.; Han, L.; Israel, L.B.; Daras, J.C.; Maye, M.M.; Ly, N.K.; Zhong, C.J. *Analyst* **2002**, 127, 462-465.
3. Lu, C.; Zu, Y.; Wing-Wah Yam, V. *Anal. Chem.* **2007**, 79, 666-672.

## Ottimizzazione dello screening ELISA per la determinazione di istamina nei prodotti della pesca

T. Tavoloni, C. Lestingi, A. Piersanti

Centro di Referenza Nazionale per il Controllo Chimico e Microbiologico dei Molluschi Bivalvi-Istituto Zooprofilattico dell'Umbria e delle Marche, Via Cupa di Posatora 3, 60100 Ancona  
t.tavoloni@izsum.it

L'istamina è un'ammina biogena con attività vasodilatatoria che si forma dalla decarbossilazione batterica dell'istidina nel tessuto muscolare di specie ittiche appartenenti alle famiglie Sgombridae, Clupeidae, Engraulidae, Coryfenidae, Pomatomidae e Scombrosidae, caratterizzate da un contenuto particolarmente elevato di questo amminoacido. Il consumo di tali pesci non correttamente conservati è responsabile di un'intossicazione alimentare nota come "sindrome sgombroidea". I limiti di legge per il contenuto di istamina in queste specie sono definiti dal Regolamento CEE 2073/2005.

In commercio esistono diversi kit immunoenzimatici utilizzabili per analisi di screening ed in grado di fornire risultati in tempi molto più rapidi della cromatografia liquida (riconosciuta come metodo ufficiale), con una percentuale trascurabile di falsi negativi. L'efficienza e la rapidità nell'emissione dei referti analitici consente ai laboratori ufficiali preposti al controllo degli alimenti di rispondere in modo appropriato alle esigenze dell'utenza.

Si riportano i risultati dello studio di un saggio ELISA competitivo semi-quantitativo effettuato con lo scopo di ottimizzare l'analisi riducendo al minimo i tempi-operatore ed il consumo di materiali. Lo sviluppo del metodo è partito dall'esigenza di riuscire a definire la conformità dei campioni ai limiti fissati dalla legge senza però dover necessariamente fornire un risultato quantitativo.

La specificità è stata valutata analizzando 30 campioni bianchi equamente ripartiti tra le matrici più comunemente analizzate (sgombro fresco, alici fresche e maturate in salamoia, tonno fresco e sott'olio). La percentuale di inibizione ( $B/B_0$ ) media ottenuta è di  $80.9 \pm 6.64\%$ .

Parallelamente ai bianchi sono stati analizzati gli stessi 30 campioni fortificati a 100 mg/Kg di istamina (limite minimo di legge) ottenendo un valore medio di  $B/B_0$  pari a  $25.2 \pm 2.71\%$ .

A partire da tali risultati si è proceduto al calcolo del segnale cut-off al di sotto del quale il campione è da ritenersi sospetto e pertanto da confermare in HPLC. Al valore  $B/B_0$  medio ottenuto per i fortificati è stata addizionato lo scarto tipo moltiplicato per un fattore cautelativo K pari a 2.903 (t di student ad una coda per  $n=29$  e  $p=99.65\%$ ), che corrisponde ad una probabilità  $\alpha=0.35\%$  che campioni con una concentrazione di istamina di 100 mg/Kg non vengano riconosciuti dal kit come sospetti. Si procederà pertanto ad analisi di conferma strumentale soltanto per campioni con  $B/B_0 \leq 33.0\%$ , (istamina  $\geq 100$  mg/Kg).

Il saggio ELISA viene allestito in modo da analizzare nella stessa seduta i campioni, lo standard con segnale massimo ( $B_0$ ), uno standard con concentrazione di istamina prossima a 100 mg/Kg, un campione bianco e lo stesso campione fortificato a 100 mg/Kg di istamina.

T. Cenci *Webzine Sanità pubblica veterinaria* 2002, 14.

Gruppo di Lavoro dei Settori Chimici degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (I.I.ZZ.SS).

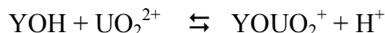
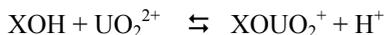
Linea Guida per la Validazione Intra-laboratorio di Metodi di Prova di Screening in accordo con la Decisione 2002/657/CE – Rev. 1 – 14/02/2008

## Surface Complexation Modelling di uranile su sedimenti fluviali

M. Zambrotta, V. Zelano, M. Ginepro, S. Berto, M. C. Cavallero

Università degli studi di Torino, Dipartimento di Chimica Analitica, Via Pietro giuria 5, Torino

Negli ultimi anni il nostro gruppo ha sviluppato una ricerca sul contributo che l'interazione metallo-sedimento ha sulla mobilità, concentrazione e biodisponibilità dei metalli nei sistemi acquatici superficiali e sub-superficiali. Ultimo, ma solo in ordine temporale, è lo studio relativo all'uranio. Da vari lavori presenti in letteratura emerge che la forma più stabile di uranio nei comparti ambientali è l'uranile ( $\text{UO}_2^{2+}$ ). La sua mobilità dipende da vari fattori, inclusa l'efficacia della complessazione in fase acquosa (funzione della composizione della soluzione e del pH), la natura e disponibilità di siti leganti su minerali e sedimenti. A pH prossimo alla neutralità ed in assenza di forti agenti complessati in fase acquosa, il trasporto di uranio(VI) è infatti limitato da una forte interazione con alcune componenti minerali del sedimento. In anni recenti sono stati pubblicati diversi lavori relativi alla *sorption* dell'uranile in sistemi con fasi singole, applicando un modello definito *Surface Complexation Modelling* (SCM), ma l'applicazione del SCM alle miscele di minerali o sedimenti è risultata più complessa e relativamente rara, a causa dell'eterogeneità dei siti e dell'ambiente legante. Il lavoro qui presentato è stato condotto proprio applicando il modello SCM ai sedimenti per cercare di meglio comprendere il destino dell'uranio nei sistemi acquatici. Lo studio è stato svolto mediante esperimenti di *sorption* condotti con titolazioni potenziometriche in *batch*, determinazioni spettroscopiche (ICP) del metallo legato al sedimento, modellizzazione dei dati sperimentali. Sono stati utilizzati sedimenti prelevati negli strati superficiali del fiume Po, ed indagati diversi rapporti metallo/legante, per diversi pH. Le costanti di formazione dei complessi sono state ottenute elaborando i dati potenziometrici all'equilibrio e i dati dell'uranile legato con uno specifico software (FITEQL 4.0). È stato ipotizzato un modello non-elettrostatico in cui il sedimento è stato considerato nella sua totalità (approccio definito *generalized composite*). Nell'elaborazione sono state introdotte le principali specie idrolitiche dell'uranile in fase acquosa, considerando i valori delle costanti riportati nei più recenti lavori specifici. Sono state ipotizzate due possibili reazioni coinvolgenti lo ione uranile nella formazione di complessi mononucleari:



dove XOH and YOH indicano due siti generici del sedimento. È stato ottenuto un modello che inquadra con successo i dati potenziometrici e spettroscopici relativi alle diverse concentrazioni di uranile ( $1 \cdot 10^{-4}$  M,  $1 \cdot 10^{-5}$  M,  $1 \cdot 10^{-6}$  M) e le diverse quantità di sedimento (20 g/L, 10 g/L, 5 g/L). I meccanismi di *sorption* sono gli stessi, anche se possono essere sottolineate delle differenze, relative alla ripartizione delle varie specie, in funzione del pH e dei diversi rapporti metallo/sedimento. Si tratta di un "modello poco complesso" e i valori di  $\log K$  proposti sono comparabili con altri riportati in letteratura per quarzo, caolinite, phyllite, e altri minerali argillosi. La composizione del nostro sedimento, che contiene poco carbonio organico ma diverso quarzo e feldspato, l'alta affinità dell'uranile per leganti contenenti ossigeno assieme al modello ottimizzato, ci lasciano supporre un importante ruolo dei gruppi silanolici nell'interazione e una mobilità a corto raggio di questo catione nell'ambiente.

## Determinazione analitica di metalli nel PM<sub>10</sub> con tecnica ICP-MS e caratterizzazione di due siti della provincia di Trieste mediante PCA

*F. Cozzi\**, *E. Reisenhofer\**, *P. Barbieri\**, *M. Bovenzi<sup>§</sup>*, *P. Apostoli<sup>†</sup>*, *G. Adami\**

\*Dip. di Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via L. Giorgieri 1, 34127 Trieste

<sup>§</sup> Unità Clinica Operativa di Medicina del Lavoro, Dip. di Scienze di Medicina Pubblica, Università di Trieste, Via della Pietà 19, 34129 Trieste

<sup>†</sup> Dip. di Medicina Sperimentale e Applicata, Medicina del Lavoro e Igiene Industriale, Università di Brescia, Piazzale Spedali Civili 1, 25123 Brescia

Recenti studi epidemiologici hanno dimostrato una associazione tra la concentrazione del particolato atmosferico di diametro inferiore ai 10 µm (PM<sub>10</sub>) ed alcuni effetti negativi sulla salute [1]. In questo studio, si è focalizzata l'attenzione sui metalli in quanto quest'ultimi possono essere veicolati nel circolo ematico dopo aver attraversato la barriera alveolare, ed accumularsi in vari tessuti e organi [2]. La loro determinazione inoltre è utile per l'individuazione delle possibili fonti emissive di una certa area dato che determinati metalli ed i rapporti tra questi sono traccianti di particolari sorgenti. Questo studio si situa all'interno del PRIN SITECOS (Studio Integrato sul Territorio nazionale per la caratterizzazione ed il CONTROLLO di inquinanti atmosferici) [3].

Sono state condotte due campagne di campionamento, una invernale ed una estiva in due siti della provincia di Trieste: uno urbano-industriale ed uno costiero.

Le analisi dei metalli (Ag, As, Ba, Br, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, La, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Se, Th, U, V, Zn e Zr) sono state eseguite, previo attacco acido secondo la metodica US-EPA Method IO-3.5 [4], mediante ICP-MS (Perkin-Elmer ELAN<sup>®</sup> DRC II).

L'analisi dei dati ottenuti ha individuato un maggior numero di sforamenti del limite giornaliero per la concentrazione del PM<sub>10</sub> nel sito urbano rispetto a quello costiero; tuttavia le concentrazioni dei metalli per i quali l'UE o l'OMS hanno fissato dei limiti (As, Cd, Mn, Ni, Pb e V) si sono mantenute sempre ben al disotto di questi limiti in entrambi i siti.

L'analisi delle componenti principali applicata ai due siti ha portato all'individuazione di quattro fattori che spiegano l'80% della varianza complessiva: la prima componente comprende Al, Fe, Mn, Th, U e Zr e può essere associata al contributo crostale, la seconda comprende Br, Ni e V e può essere associata al traffico veicolare, la terza As, Cd e Zn e può essere associata ad emissioni industriali, mentre la quarta, legata a vari elementi, è di più difficile interpretazione.

Dall'analisi dei dati meteorologici è stato evidenziato l'effetto benefico sulla qualità dell'aria del vento di bora (vento catabarico che soffia da N-E e che può raggiungere la velocità di oltre 120 km/h) sia nella stagione invernale che in quella estiva.

1. B. Brunekreef, S. Holgate *The Lancet* **2002**, 360, 1233 - 1242
2. Hileman, B. et al. *Environmental Science & Technology* **1981**, 15, 983-986
3. <http://www.dcabc.uniba.it/Sitecos/SITECOShome.asp>
4. <http://www.epa.gov/ttnamti1/files/ambient/airtox/metalsop>

## Assorbimento cutaneo *in vitro* di polveri di cobalto, nichel e cromo attraverso cute umana integra e lesa

*M. Crosera<sup>‡</sup>, F. Larese Filon<sup>\*</sup>, F. D'Agostin<sup>\*</sup>, M. Bovenzi<sup>\*</sup>, G. Maina<sup>†</sup>, E. Reisenhofer<sup>‡</sup>, G. Adami<sup>‡</sup>*

<sup>‡</sup>Dip. di Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via L. Giorgieri 1, 34127 Trieste

<sup>\*</sup>UCO di Medicina del Lavoro, Dip. di Scienze di Medicina Pubblica, Università di Trieste

<sup>†</sup>Laboratorio di Tossicologia Industriale – CTO – Università di Torino

In questo studio è stata valutata la permeazione cutanea di polveri metalliche di cobalto (Co), nichel (Ni) e cromo (Cr), noti sensibilizzanti cutanei <sup>[1,2,3]</sup>, e l'influenza che le lesioni cutanee possono avere su tale assorbimento. Gli esperimenti di permeazione cutanea *in vitro* sono stati condotti utilizzando le celle di diffusione di Franz <sup>[4]</sup> con cute umana integra e danneggiata <sup>[5]</sup>. La fase donatrice è costituita da polvere con diametro < 10 micron (rispettivamente di Co, Ni o Cr) dispersa in sudore sintetico a pH 4,5 e applicata sulla superficie esterna della cute per 24 ore. Come fase ricevente, a contatto con il derma, è stata usata una soluzione fisiologica a pH 7,3.

Per l'analisi della fase ricevente, della fase donatrice e delle soluzioni derivanti dalla digestione della cute è stata utilizzata l'Electro Thermal Atomic Absorption Spectroscopy (ETAAS) con sistema di correzione del fondo Zeeman, che si è dimostrata la tecnica ottimale in termini di limiti di rivelabilità e di accuratezza. Le quantità medie di Co e Ni trovate nella fase ricevente sono significativamente più alte quando le polveri metalliche sono state applicate su cute lesa rispetto alla cute integra (3.560 e 2.600 ng cm<sup>-2</sup> vs 61 e 42 ng cm<sup>-2</sup>, rispettivamente), mentre non sono state riscontrate differenze significative nella permeazione della polvere di cromo. Le quantità di Co, Ni e Cr rimaste nella cute dopo 24 ore di esposizione sono significativamente più alte nella cute lesa rispetto alla cute integra (48.6, 131 e 62.1 µg cm<sup>-2</sup> vs 29.6, 82.2 e 14.3 µg cm<sup>-2</sup>, rispettivamente). Le analisi delle fasi donatrici, dopo rimozione della polvere per centrifugazione e filtrazione, hanno confermato la presenza di ioni metallici in soluzione: la ionizzazione di Co e Ni risulta significativamente maggiore quando la sospensione è applicata alla cute lesa rispetto alla cute integra (55.6 e 129 mg L<sup>-1</sup> vs 21.3 e 57.5 mg L<sup>-1</sup>, rispettivamente), mentre il Cr non mostra alcuna differenza.

Questo studio dimostra che le polveri di Co e Ni possono permeare la cute lesa più facilmente rispetto alla polvere di Cr, il quale probabilmente ha una maggiore capacità di legarsi alle proteine presenti nella cute stessa. Questi risultati evidenziano la necessità di prevenire il contatto di sostanze tossiche con la cute, perché anche piccole lesioni possono portare ad un significativo aumento dell'assorbimento.

*Ringraziamenti: Gli autori ringraziano il Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca, Progetti di Rilevante Interesse Nazionale (PRIN 2006) per il supporto finanziario.*

1. B. Meding, G. Swanbeck *Br. J. Dermatol.* **1987**, *116*, 627-631.
2. J.D. Guin, *Practical contact dermatitis.* **1995**, McGraw-Hill, Inc. New York.
3. F. Larese Filon, G. Adami, M. Venier, G. Maina, N. Renzi *Toxicol. Lett.* **2007**, *170*, 49-56.
4. T.J. Franz *J. Invest. Dermatol.* **1975**, *93*, 633-640.
5. R.L. Bronaugh, R.F. Stewart *J Pharm Sci* **1985**, *74*, 1062-1066

## Influenza del pH sulla fotodegradazione di pesticidi in sospensioni acquose di biossido di titanio

M. Fanelli,<sup>a,b</sup> F. Ruggieri,<sup>a</sup> A. A. D'Archivio,<sup>a</sup> P. Mazzeo<sup>a</sup>,  
A. Falgiani,<sup>b</sup> R. Adinolfi Falcone,<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dipartimento di Chimica, Ingegneria Chimica e Materiali, Università di L'Aquila,  
via Vetoio, 67010 Coppito (AQ)

<sup>b</sup> Laboratori Nazionali del Gran Sasso, Istituto Nazionale di Fisica Nucleare,  
S.S. 17/bis Km 18+910, 67010 Assergi (AQ)

Il biossido di titanio è un semiconduttore ampiamente usato nell'industria per la sua versatilità e per il suo basso costo. Esplica azione fotocatalitica quando viene irradiato con una radiazione con  $\lambda < 380$  nm, in grado di promuovere un elettrone dalla banda di valenza (VB) a quella di conduzione (CB). La coesistenza di lacune elettroniche ed elettroni liberi (in altri termini per il carattere ossidante e riducente, rispettivamente) è alla base dell'effetto catalitico del biossido di titanio rispetto a reazioni di degradazione. Tale caratteristica si esplica attraverso l'azione diretta sulle molecole adsorbite e/o attraverso la formazione di specie radicaliche altamente reattive [1-2]. Il presente lavoro illustra i risultati ottenuti studiando l'azione fotocatalitica di nanomateriali di biossido di titanio sulla velocità di degradazione di molecole resistenti alla biodegradazione, al fine di ipotizzare l'impiego di tale tecnologia in sistemi reali. Il biossido di titanio utilizzato in questo lavoro è stato sintetizzato in laboratorio mediante la tecnica sol-gel [3] ed è stato caratterizzato tramite la diffrazione dei raggi X e la microscopia a scansione elettronica (SEM). In questo studio si è valutata l'influenza del pH sull'efficienza fotocatalitica del semiconduttore nelle reazioni di degradazione di quattro pesticidi con caratteristiche sia acide che neutre. È noto che pH del mezzo influenza sia la carica superficiale del biossido di titanio, che presenta caratteristiche anfotere, sia il grado di ionizzazione di soluti acidi o basici, ed, indirettamente, il meccanismo e la cinetica della reazione di degradazione. Al fine di valutare tale effetti, e' stata effettuata una serie di esperimenti per studiare la dipendenza della costante cinetica apparente e della costante di adsorbimento dall'acidità del mezzo.

[1] A. Mills, R. H. Davies, D. Worsley, Chem. Soc. Rev. 22 (1993)417.

[2] A. L. Linsebigler, G. Lu, J. T. Yates Jr., Chem. Rev. 95 (1995) 735.

[3] V. I. Boti, V. A. Sakkas, T.A. Albanis, J. Chromatogr. A 1146 (2007) 139.

## Metodi analitici per la determinazione di addotti stabili BaP<sub>(ox)</sub>-DNA

*M. Del Carlo*,\* *M. Sergi*,\* *M. Mascini*,\* *A. Pepe*,\* *M. Di Marcello*,\* *A. Fragassi*,\*  
*A. Kiss*,<sup>†</sup> *D. Compagnone*\*

\* Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Teramo Via Lericci 1, Mosciano Stazione  
<sup>†</sup> Eszterházy Károly University - Egerfood Regional Research Centre, Eger Ungheria

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono un gruppo di contaminanti ubiquitari rilasciati nell'ambiente sia da sorgenti antropiche che naturale. Da lungo tempo è nota la fototossicità degli IPA, sebbene solo nel 2004 è stata sperimentalmente dimostrata la fotomutagenicità di alcuni IPA. L'esposizione degli IPA dispersi nell'ambiente alla radiazione ultravioletta provoca delle modificazioni fotoindotte di questi composti; tra le principali ricordiamo reazioni di fotodegradazione e fotoossidazione (1).

Da alcuni anni il nostro gruppo sta studiando, attraverso l'uso di biosensori elettrochimici a DNA, le interazioni tra IPA attivati attraverso radiazione ultravioletta e sequenze di DNA genomico di diverse specie (2).

In questa comunicazione saranno presentati dati relativi alla fotodegradazione e fotoossidazione di una molecola modello, il benzo[a]pirene (BaP) e la sua interazione con una sequenza di poli-guanina (poli-G<sub>24</sub>). Attraverso misure condotte in HPLC-FL è stata studiata la cinetica di degradazione del BaP a pH 4 e pH 7 in presenza/assenza di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, in presenza/assenza di radiazione UV. I risultati mostrano che la degradazione è pH dipendente, essendo più rapida alla neutralità e che la presenza dell'agente ossidante e della radiazione UV influenzano positivamente questo fenomeno. Studi strutturali attraverso FTIR e spettrometria di massa sono stati condotti per la caratterizzazione dei prodotti di reazione, arrivando alla identificazione di un OH-BaP.

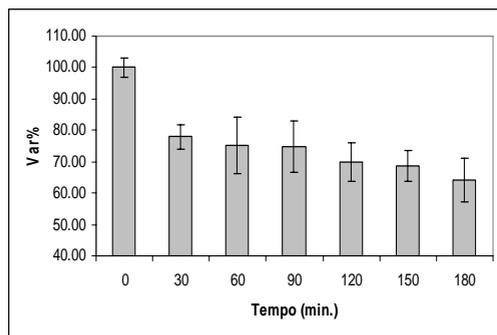


Figura 1: Variazione dell'assorbanza della poli-G<sub>24</sub> in presenza di BaP<sub>ox</sub>, rispettivamente 6 μM e 600 nM.

Per quanto riguarda l'interazione tra BaP fotoossidato e sequenza di poli-G<sub>24</sub> sono state condotte misure spettrofotometriche seguendo la variazione dell'assorbanza della guanina in presenza del BaP fotoattivato (Figura 1) lavorando a diversi rapporti stechiometrici. Gli eventuali addotti stabili BaP-poli-G<sub>24</sub> saranno caratterizzati attraverso misure in LC-MS. Inoltre la formazione degli addotti sarà studiata tramite un saggio di inibizione della reazione di ibridazione utilizzando un biosensore piezoelettrico a DNA.

*Con il contributo del Ministero degli Affari Esteri, Direzione Generale per la Promozione e la Cooperazione Culturale*

(1) Toyooka T., Ibuki Y. *Environ. Tox. and Pharm.* 23 (2007) 256–263

(2) Del Carlo M. et al *Microchim. Acta* DOI 10.1007/s00604-008-0009-2

## Metodologie GC per l'analisi del bio-olio ottenuto dalla pirolisi di biomassa vegetale

A. Adamiano, D. Fabbri, A. Magnani, C. Torri

Laboratori di Scienze Ambientali "R.Sartori", C.I.R.S.A., Università di Bologna, Via S.Alberto 163, 48100 Ravenna; dani.fabbri@unibo.it

La pirolisi è fra le opzioni di processo per la conversione della biomassa in una frazione liquida che può essere impiegata come materia prima per combustibili e prodotti chimici.<sup>1-2</sup>

Il liquido pirolitico ottenuto da biomasse legnose (bio-olio) è una miscela molto complessa contenente centinaia di composti organici formati dalla degradazione termica di cellulosa, emicellulosa, lignina e costituenti minori originariamente presenti nella biomassa. Conoscere la composizione chimica del bio-olio è importante sia per la sua destinazione energetica, in quanto essa determina caratteristiche cruciali per il combustibile, come potere calorifico, acidità e stabilità, sia per le implicazioni eco-tossicologiche ed ambientali causate dalla presenza di sostanze tossiche. Sebbene siano stati validati protocolli analitici per le proprietà principali del bio-olio, non sono stati ancora stabiliti metodi standard per la determinazione delle singole sostanze.<sup>3</sup>

Una frazione consistente del bio-olio è costituita da composti organici semi-volatili analizzabili attraverso tecniche GC. Tali composti sono presenti in un ampio intervallo di concentrazione e presentano una notevole variabilità strutturale, per cui è difficile che una singola metodologia possa essere applicabile a tutti gli analiti.

In questo contributo si descrivono alcune procedure di analisi GC sviluppate allo scopo di determinare la composizione del bio-olio. Le diverse procedure riflettono le caratteristiche chimiche degli analiti e sono state sviluppate utilizzando un campione di bio-olio ottenuto dalla pirolisi di pino. La determinazione di fenoli, 2-metossifenoli, furani, pirani, ciclopentanoni è stata effettuata tramite analisi diretta del bio-olio sciolto in acetonitrile, utilizzando 2-bromonafalene come standard interno; un'aliquota è stata sililata con BSTFA per l'analisi di levoglucosano ed altri polioli. Tutti questi analiti sono stati determinati tramite GC-MS separandoli su una fase polisilossanica non-polare. L'analisi di acido acetico e di altri acidi organici è stata condotta tramite GC-FID con una fase polare di polietilenglicole modificata utilizzando l'acido esanoico come standard interno.

Per la determinazione degli IPA, presenti in tracce in una matrice molto complessa, è stato necessario sviluppare una procedura di *clean-up*. La soluzione di bio-olio in acetonitrile/acqua, fortificata con IPA deuterati, viene estratta con *n*-esano per eliminare i polioli, la soluzione esanica è lavata con una soluzione acquosa basica per eliminare i metossi/fenoli e sottoposta ad estrazione in fase solida con silice. Gli IPA sono eluiti con una miscela diclorometano/esano e analizzati in GC-MS.

*Ringraziamenti:* ricerca condotta nell'ambito del progetto strategico Agro-Pyro-Energy-Farm dell'Università di Bologna.

1. G. W. Huber, A. Corma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7184-7201.
2. S. Czernik, A. V. Bridgwater, *En. Fuels* **2004**, *18*, 590-598.
3. A. Oasmaa, D. Meier, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2005**, *73*, 323-334.

## **Progettazione e validazione di un sistema di digestione UV ad alta efficienza per l'analisi di ioni metallici tramite tecniche voltammetriche**

*A. Castelletti, D. Monticelli, G. Carugati, C. Dossi.*

Dipartimento di Scienze Chimiche e Ambientali, Università degli Studi dell'Insubria  
Via Valleggio, 11, 22100 Como – Italy

La determinazione di ioni metallici in traccia e ultratraccia in campioni ambientali con tecniche elettroanalitiche presenta come problematica principale la presenza di sostanze organiche naturali. Queste specie (ad esempio acidi umici e fulvici) legano fortemente i metalli impedendo la loro corretta quantificazione.

È quindi indispensabile un pretrattamento del campione che distrugga la componente organica presente in soluzione per ottenere risultati attendibili.

Per raggiungere questo obiettivo è stato progettato, realizzato e validato un sistema di digestione ultravioletta per il pretrattamento di campioni acquosi al fine di decomporre completamente le sostanze organiche presenti.

La prima fase ha riguardato l'assemblaggio della componentistica elettronica (case di controllo) e della camera di digestione UV. Il sistema è costituito da una lampada a vapori di Hg a 500W allocata in una camera chiusa e ventilata: i campioni vengono disposti in provette in quarzo su un supporto circolare attorno alla lampada.

La temperatura dei campioni viene misurata tramite termocoppia posta in una provetta.

La temperatura della camera di digestione UV viene controllata da un Gefran1000: questo dispositivo elettronico permette di leggere la temperatura misurata dalla termocoppia.

L'efficacia di tale pretrattamento è stata verificata monitorando il contenuto di carbonio organico totale (TOC) su campioni reali. Durante la procedura di ottimizzazione del sistema è stato valutato l'effetto della durata del trattamento e della introduzione di un iniziatore radicalico come l'acqua ossigenata.

I risultati ottenuti hanno evidenziato l'elevata efficacia del sistema che riduce il TOC al 5% del valore iniziale in sola mezz'ora di trattamento senza l'impiego di acqua ossigenata.

Il sistema di digestione ultravioletta è stato validato determinando la concentrazione dello ione rame in campioni di acque naturali tramite voltammetria di stripping catodico confrontando i risultati ottenuti con ICP-MS impiegata quale tecnica di riferimento.

Jerzy Golimowski, Katarzyna Golimowska *Anal. Chim. Acta* 325 (1996) 111-133  
D. Monticelli, E. Ciceri, C. Dossi *Anal. Chim. Acta* 594 (2007) 192-198

## Reazioni di degradazione dell'erbicida tribenuron-metil per via idrolitica e fotoindotta

*P. Frascarolo, M. Bottaro, F. Gosetti, V. Gianotti, E. Mazzucco, M.C. Gennaro*

Università del Piemonte Orientale, DISAV Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita,  
via Bellini 25/G, 15100 Alessandria

Requisiti di erbicidi di nuova generazione sono alta selettività e bassa persistenza nell'ambiente. Recenti allarmi riportano che bassa persistenza non corrisponde a completa mineralizzazione ma alla formazione di prodotti di degradazione, dovuta sia a reazione di idrolisi sia a foto irraggiamento.

Mediante metodi HPLC-DAD-MS/MS si sono studiati i processi di degradazione che hanno luogo in soluzioni acquose di tribenuron metil sia conservate al buio sia sottoposte ad irraggiamento che simula la luce solare [1].

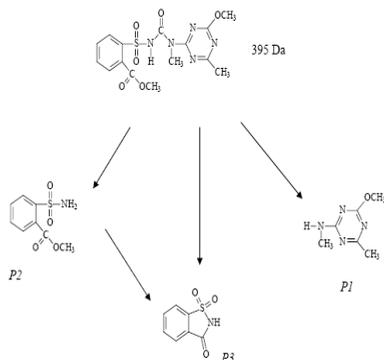
I risultati indicano che i prodotti di degradazione formati per reazioni di sola idrolisi e per foto irraggiamento sono gli stessi ma la cinetica della reazione di degradazione per via idrolitica è molto più lenta.

Le reazioni d'idrolisi rappresentano circa il 12% rispetto al livello di degradazione indotta dalla irradiazione.

Si sono identificati e determinati tre prodotti principali, denominati P1, P2 e P3, come mostrato nel cammino di degradazione riportato in figura.

Gli stessi prodotti di degradazione si formano anche per fotoirraggiamento in acqua di risaia, ma con cinetica più lenta rispetto all'acqua ultrapura.

Prove ecotossicologiche hanno inoltre mostrato che i prodotti formati sono caratterizzati da tossicità confrontabile a quella dell'erbicida precursore, rendendo pertanto discutibile il conclamato vantaggio di bassa persistenza nell'ambiente.



*Si ringraziano il Comitato Interministeriale per la Programmazione Economica, l'Associazione Ambiente Territorio e Formazione di Alessandria ed il MIUR (Ministero Italiano Università e Ricerca)*

I. S. Polati, M. Bottaro, P. Frascarolo, F. Gosetti, V. Gianotti, M.C. Gennaro, *Analyt. Chim. Acta*, **2006**, 579, 146-151.

## **Determinazione per I.C. di acidi carbossilici a concentrazioni sub-ppb e applicazione a campioni di aerosol raccolti in aree antropizzate e remote**

*O. Cerri, S. Becagli, D. Manganelli, A. Morganti, M. Severi, R. Traversi, R. Udisti*

Dip. di Chimica, Università di Firenze, Via della Lastruccia 3, 50019, Sesto Fiorentino (FI).

E' stato messo a punto un metodo analitico per la determinazione quantitativa di fluoruri, MSA e acidi carbossilici a corta catena (acetati, glicolati, propionati, formiati e piruvati) a concentrazioni di  $\mu\text{gL}^{-1}$  e sub- $\mu\text{gL}^{-1}$  mediante cromatografia ionica in gradiente, in campioni di aerosol raccolti in aree antropizzate (insediamenti urbani e siti collinari in Toscana), marine remote (isola di Lampedusa) e polari (Dome C, Antartide Orientale). La separazione è stata effettuata con un metodo che prevede una eluizione in gradiente utilizzando come eluenti una soluzione diluita di  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (4.7mM) e una soluzione concentrata di  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  (85.4mM). Per le stesse tipologie di campioni è stato messo a punto un metodo analitico per la determinazione dei principali anioni inorganici e degli ossalati, a concentrazioni di  $\mu\text{gL}^{-1}$  e sub- $\mu\text{gL}^{-1}$ , impiegando un secondo cromatografo ionico. Tale metodo prevede una eluizione isocratica con una soluzione di  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2mM)/ $\text{NaHCO}_3$  (2mM) come eluente. Per entrambi i metodi viste le basse concentrazioni riscontrate nei campioni reali, è stato usato un preconcentratore anionico caricato con 1.5mL di campione.

La riproducibilità ottenuta su 10 repliche di una soluzione contenente 1 ppb di fluoruri, 4 ppb di ossalati e 10 ppb degli altri anioni organici è risultata essere sempre migliore del 2% per tutti i componenti esaminati. Sono stati ottenuti i detection limit di 0.06 ppb per i fluoruri, 0.14 ppb per i formiati e 0.3-0.6 ppb per tutti gli altri componenti.

L'applicazione di questi metodi a campioni di aerosol prelevati nelle stazioni precedentemente descritte ha permesso di trarre importanti considerazioni.

L'MSA è risultato essere un marker della bioproduttività oceanica e dell'estensione del ghiaccio marino in Antartide; i primi risultati dei campioni di aerosol raccolti in Antartide evidenziano come la distribuzione di questo marker biogenico (dai siti costieri a quelli di Plateau) dipenda dall'efficienza dei processi di trasporto e dall'attività fotochimica dell'atmosfera.

I glicolati misurati in Toscana, nell'ambito del progetto PATOS, e a Lampedusa, in accordo di collaborazione con l'ENEA, sono risultati costituire un ottimo marker per le emissioni di "biomass burning": valori elevati di glicolati sono stati registrati in inverno in stazioni dove si fa largo uso di riscaldamento a legna. A Lampedusa, elevate concentrazioni atmosferiche di glicolati sono state associate al trasporto di masse d'aria continentali da aree interessate da incendi boschivi (rilevazioni da satellite).

Le concentrazioni di Formiati, misurati in Toscana, mostrano, in inverno, un andamento simile a quello di  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{K}^+$  e possono essere utilizzati come indicatori di emissioni da riscaldamento domestico.

La concentrazione degli ossalati, analogamente a quanto annunciato per l'MSA, dipende dall'attività fotochimica dell'atmosfera: essi, infatti, rappresentano intermedi di ossidazione di composti del ciclo del carbonio. Infatti, la concentrazione degli ossalati in Antartide cade praticamente a zero durante i mesi invernali caratterizzati dalla completa assenza di luce solare.

# Applicazione di metodologie statistiche per l'analisi delle periodicità in serie temporali di marker chimici in carote di ghiaccio

S. Becagli, E. Castellano, M. Severi, F. Rugi, R. Traversi, R. Udisti

Dip. di Chimica – Università di Firenze, via della Lastruccia, 3 Sesto F.no 50019 FI  
silvia.becagli@unifi.it

L'analisi spettrale è un potente strumento statistico per evidenziare le periodicità nelle serie temporali di marker chimici, ottenuti dalle stratigrafie di carote di ghiaccio, e di variazioni climatiche e ambientali. L'analisi statistica qui riportata è stata effettuata mediante il software STATISTICA® (Stat Soft) che utilizza l'algoritmo Fast Fourier Transform (FFT). Questo strumento matematico richiede una minima manipolazione dei dati tesa all'ottenimento di una risoluzione temporale uniforme. Per discriminare le principali periodicità, è stata calcolata la funzione di densità spettrale. I massimi di tale funzione rappresentano una banda di frequenze che contribuiscono maggiormente al comportamento periodico globale della serie. La densità spettrale è calcolata come una funzione di media mobile ponderata dei valori del periodogramma ottenuto dalla FFT utilizzando i coefficienti di Tukey-Hamming (Blackman e Tukey, 1958). Allo scopo di evidenziare le sole frequenze significative, è necessario calcolare la funzione di "rumore rosso" (valori più elevati di densità spettrale alle frequenze più basse - Ghil et al., 2002) che rappresenta, meglio del "rumore bianco" (valore di rumore costante ad ogni frequenza), il background delle frequenze delle serie climatiche e geofisiche (e.g. Mitchell, 1976). Sulla base del rumore rosso è possibile calcolare i livelli di confidenza del 90, 95 e 99% delle frequenze osservate in accordo con la procedura di Mann e Lee, 1996. Attraverso una analisi incrociata di due serie temporali è possibile, inoltre, ottenere informazioni sulla correlazione (positiva o negativa), la coerenza (che esprime la significatività della correlazione fra le due funzioni) e la fase (sfasamento temporale) fra le oscillazioni periodiche di due serie temporali. Qui di seguito sono riportati alcuni esempi di applicazione di questo approccio statistico a marker chimici determinati in carote di ghiaccio:

1 Le periodicità ottenute dalla stratigrafia dell'acido metansolfonico in una carota di firm prelevata Talos Dome (Antartide) sono state messe in relazione alle variazioni periodiche dei modi di circolazione atmosferica (Southern Oscillation Index e Southern Annular Mode), rivelando un complesso accoppiamento fra le concentrazioni atmosferiche di questo marker e le variazioni delle emissioni biogeniche ed i processi di trasporto su scala emisferica.

2 Le periodicità dell'incidenza di eruzioni vulcaniche memorizzate in una carota di ghiaccio prelevata a Dome C (Plateau Antartico) hanno mostrato essere in relazione con le variazioni climatiche a scala globale.

3 Attraverso l'identificazione delle frequenze di selezionati marker chimici nella carota di Dome C, è stato possibile porre in relazione le oscillazioni periodiche di tali parametri con le tipiche periodicità dei parametri orbitali (cicli di 100 000, 42 000, 23 000 e 19 000 anni).

Blackman, R. B., & Tukey, J. The measurement of power spectral from the point of view of communication engineering. **1958**. New York: Dover.

Ghil, M. and 10 others. *Reviews of Geophysics*, **2002**, 40, 1-1 - 1-41

Mitchell, J.M., *Quat. Res.*, **1976**, 6, 481-493.

## Sistemi biologici per la rimozione e la separazione delle specie del cromo

*L. Campanella<sup>a</sup>, R. Dragone<sup>b</sup>, L. Ermilov<sup>a</sup>, D. Lelo<sup>a</sup>*

a- Dipartimento di Chimica Università di Roma "La Sapienza" P.le Aldo Moro 5, 00185 Roma

b- Istituto dei Sistemi Complessi-CNR c/o Dipartimento di Chimica Università di Roma "La Sapienza"

Le principali fonti d'emissione dei metalli pesanti sono d'origine antropogenica: grandi industrie del settore metallurgico ed elettrotecnico, fabbriche di coloranti o concerie, miniere, etc. Tutti questi settori, che si adoperano per soddisfare la crescente domanda di differenti prodotti industriali, di materie prime, di carburanti e di prodotti agro-alimentari, durante i loro cicli produttivi, utilizzano, producono o scartano grosse quantità di sostanze contenenti metalli potenzialmente tossici. Naturalmente gli effetti tossici dipendono dalla speciazione del metallo con particolare riferimento al suo stato d'ossidazione: ad esempio, il Cr (VI) è tossico per tutti gli organismi, e gli effetti carcinogenici dei suoi composti sono ben conosciuti mentre per il Cr (III) si è riscontrata una minore tossicità che sembra essere in correlazione con la sua bassa capacità di penetrare in queste cellule.

Alcune tecniche analitiche per la misura diretta e la speciazione delle tracce del cromo nell'acqua sono sufficientemente sensibili e selettive, però, richiedono dei pretrattamenti che includono la separazione e la preconcentrazione delle specie del cromo. Recentemente i microrganismi come i lieviti, i batteri ed i funghi sono stati proposti per la preconcentrazione e la speciazione dei metalli in tracce come il  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  e  $\text{Cr}^{6+}$ .

Lo scopo di questo lavoro è stato verificare la possibilità di utilizzare la capacità di alcuni sistemi biologici (microrganismi e piante) di bioassorbire ioni cromo (III e VI) sia per il risanamento ambientale di zone contaminate da tale ione metallico, che ai fini analitici per la preconcentrazione e/o separazione delle due specie più comuni del cromo(III e VI). A tale fine sono stati utilizzati 2 microrganismi ed una pianta: la *Spirulina maxima* (alga procariotica), il lievito *Saccharomyces cerevisiae* (microrganismo monocellulare eucariotico) e la pianta *Vetiver* (eucariotica). Sostanzialmente sono stati rilevati due tipi di situazioni: assorbimenti indifferenziati, ovvero senza possibilità di separazione delle specie di cromo a prescindere dai valori d'assorbimento delle percentuali ottenuti (comunque non tanto elevati da consentire un impiego di preconcentrazione o biorimozione spinta), e situazioni nelle quali invece è stato possibile differenziare il comportamento del Cr (III) e Cr (VI) rispetto al sistema biologico utilizzato. Risultati positivi per quanto riguarda le applicazioni analitiche come la speciazione sono stati ottenuti con l'alga *Spirulina* dopo 60' di contatto a pH=4 e con il lievito dopo 90' di contatto a pH=2, mentre per la preconcentrazione, i migliori risultati sono stati ottenuti con l'alga *Spirulina* dopo 120'-180' di contatto a pH=4. Per quanto riguarda le applicazioni ambientali, nel caso della biodepurazione, possono essere considerati positivi sia i risultati ottenuti per la preconcentrazione, che quelli ottenuti con la pianta *Vetiver*. I risultati conseguiti incoraggiano all'utilizzo della pianta *Vetiver* ai fini di una biorimozione. Questo studio ci ha consentito di ottenere significativi risultati per un approccio metodologico sperimentale da proporre ai fini applicativi analitici e ambientali, in particolare per la speciazione, preconcentrazione e biodepurazione.

H. Bag, R. Turker, M. Lale, A. Tunceli, *Talanta*, **2000**, *51*, 895-902.

A. I. Rapport, O.A. Muter, *Process Biochemistry*, **1995**, *30*, 145-149.

Y. Madrid, C. Càmara, *Anal. Chemistry*, **1997**, *16*, 36-44..

## **Determinazione di selezionati metalli in filtri di aerosol urbano per ICP-OES dopo mineralizzazione con HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**

*E. Castellano<sup>\*</sup>, F. Rugi<sup>\*</sup>, M. Severi<sup>\*</sup>, S. Nava<sup>†</sup>, M. Chiari<sup>†</sup>, F. Lucarelli<sup>†</sup>, R. Udisti<sup>\*</sup>*

<sup>\*</sup> Dip. di Chimica, Università di Firenze, Via della Lastruccia 3, 50019, Sesto Fiorentino (FI).

<sup>†</sup> Dip. di Fisica e INFN, Università di Firenze, Via G. Sansone 1, 50019, Sesto Fiorentino (FI).

In questo lavoro è stata messa a punto una metodologia analitica in Inductively-Coupled-Plasma Optical-Emission-Spectroscopy (ICP-OES) per la determinazione di 13 metalli (Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, V e Zn) presenti in tracce in campioni di aerosol urbano.

Date le concentrazioni estremamente basse con cui alcuni metalli sono presenti nella matrice aerosol, è stato svolto un dettagliato studio dei livelli di bianco ottimizzando le variabili operative di interesse (materiale dei contenitori, procedure di lavaggio, tipologia di nebulizzazione, purificazione dell'acido impiegato per la mineralizzazione).

Al fine di implementare i detection limits strumentali è stato utilizzato un nebulizzatore ad ultrasuoni per aumentare l'efficienza di nebulizzazione. L'analisi quantitativa è stata effettuata utilizzando spikes di Ge come standard interno per correggere eventuali effetti matrice. I detection limits ottenuti sono 1-2 ordini di grandezza inferiori ai limite di legge.

La digestione dei campioni è stata effettuata utilizzando una miscela di HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in forno a microonde secondo la normativa vigente (UNI EN 14902, Metodo normalizzato per la misurazione di Pb, Cd, As e Ni nella frazione PM10 del particolato in sospensione).

Il recupero ottenibile con questa metodica è stato valutato mediante confronto con i risultati ottenuti per misura diretta effettuata sui filtri di aerosol mediante Proton Induced X-ray Emission (PIXE).

Vengono qui presentati i risultati relativi all'analisi di filtri di aerosol campionato nell'ambito di Progetti Regionali PATOS (Particolato Atmosferico in TOscana) e PASF (Particolato Atmosferico a Sesto Fiorentino).

## **Tecniche PIXE e PIGE per l'analisi di campioni di aerosol in ghiaccio Antartico e sedimenti continentali raccolti nelle aree sorgenti nell'Emisfero Australe**

*F. Marino,<sup>\*†</sup> E. Castellano,<sup>\*</sup> S. Nava,<sup>§</sup> M. Chiari,<sup>§</sup> F. Rugi,<sup>\*</sup> F. Lucarelli,<sup>§</sup> R. Udisti<sup>\*</sup>*

<sup>\*</sup> Dip. di Chimica, Università di Firenze, Via della Lastruccia 3, 50019, Sesto Fiorentino (FI).

<sup>†</sup> Dip. di Scienze dell'Ambiente e del Territorio, Università di Milano Bicocca, Piazza della Scienza 1, 20126 Milano.

<sup>§</sup> Dip. di Fisica e INFN, Università di Firenze, Via G. Sansone 1, 50019, Sesto Fiorentino (FI).

Il particolato atmosferico insolubile, ovvero la frazione minerale dell'aerosol atmosferico, è un importante componente del sistema climatico della Terra, poiché è in grado di influenzare il bilancio e gli scambi energetici tra Atmosfera e Litosfera. La caratterizzazione geochimica delle particelle minerali in campioni di aerosol o intrappolate negli strati profondi delle calotte polari può fornire utili informazioni riguardo alle possibili aree sorgenti del materiale eolico, per la definizione dei pattern di trasporto atmosferico presenti e passati e per la caratterizzazione delle condizioni ambientali passate in tali aree. La tecnica PIXE ha dimostrato di essere uno strumento affidabile per l'analisi degli elementi maggiori e minori nel particolato archiviato nel ghiaccio antartico. Tale tecnica è stata applicata con successo alla misura diretta di particolato deposto su filtro, dopo filtrazione del campione di ghiaccio fuso e senza necessità di alcun pre-trattamento. Nel presente lavoro è proposto l'uso combinato delle tecniche PIXE (Particle Induced X-ray Emission) e PIGE (Particle Induced  $\gamma$ -Ray Emission), attraverso le quali è stato possibile incrementare l'accuratezza nella determinazione quantitativa degli elementi più leggeri (principalmente Na, Mg, Al e Si) in campioni diversi (standard minerali, aerosol minerale in ghiaccio e sedimenti continentali). I risultati ottenuti per gli standard minerali certificati nelle frazioni bulk (dimensioni delle particelle fino a 50  $\mu\text{m}$ ) e dopo selezione granulometrica della frazione fine (< 5  $\mu\text{m}$ ), sono qui presentati insieme a quelli ottenuti dall'applicazione delle due tecniche accoppiate PIXE-PIGE al particolato insolubile archiviato nel ghiaccio antartico e nel confronto con campioni di sedimenti continentali raccolti nelle potenziali aree sorgenti dell'Emisfero Australe.

## **Applicazione di un metodo termo-ottico per la determinazione di TC, EC, OC in campioni di aerosol raccolti nel Parco di San Rossore (Pisa)**

*R. Traversi,\* S. Becagli,\* M. Chiari,† F. Lucarelli,† F. Marino,## S. Nava,† R. Udisti\**

\*Dipartimento di Chimica, Università di Firenze, Via della Lastruccia 13, 50019, Sesto F.no (FI)

†Dipartimento di Fisica e INFN, Università di Firenze, Via G. Sansone 1, 50019, Sesto F.no (FI).

##DISAT, Università di Milano-Bicocca, P.za della Scienza, 1, 20126, Milano

Dal Marzo 2007 al Giugno 2008 è stato svolto un campionamento di aerosol PM10 e PM2,5, su base giornaliera, nel sito di Villa “Il Gombo”, all’interno del Parco di San Rossore (Pisa). Selezionati campioni, raccolti su un filtro di quarzo, con frequenza settimanale nel periodo compreso tra Marzo 2007 e Febbraio 2008, sono stati analizzati per il contenuto di carbonio totale (TC), carbonio elementare (EC) e carbonio organico (OC).

Data la vicinanza del Parco di San Rossore ad un’area di elevato interesse storico, architettonico e artistico (centri urbani di Pisa e Livorno), la determinazione della concentrazione atmosferica di EC e OC in questo sito riveste particolare importanza ai fini dello studio degli effetti di degrado esercitati dall’aerosol atmosferico, in particolare dalle specie carboniose, sulle opere d’arte e i manufatti artistici.

Tale analisi è stata eseguita grazie ad un analizzatore termo-ottico (Sunset Thermal/Optical Carbon Aerosol Analyzer - Sunset Laboratory Inc.), secondo il metodo NIOSH n°5040, presso INFN - Dipartimento di Fisica dell’Università di Firenze. Tra i metodi utilizzati per la quantificazione del contenuto di EC e OC, l’analisi termo-ottica fornisce la migliore accuratezza permettendo di correggere l’errore sul contenuto di EC (sovrastima) e di OC (sottostima) generato da un’eventuale pirolisi di OC già presente nel campione nella rampa iniziale di temperatura. La concentrazione di EC e OC nei campioni di aerosol è stata determinata tramite rette di calibrazione giornaliere con valori di riproducibilità (1.1% per EC e OC) e di accuratezza (2-3% per la misura di TC) migliori di quanto atteso dalle specifiche dello strumento (rispettivamente 4-6% e intorno al 5%). Le concentrazioni di carbonio misurate nei campioni prelevati nel sito di San Rossore sono risultate ampiamente superiori (2 ordini di grandezza per OC e 1 ordine di grandezza per EC) al detection limit del metodo (0.2 ug/cm<sup>2</sup> sia per OC che per EC). I profili temporali di EC e OC mostrano andamenti simili nelle due frazioni dimensionali, con massimi di concentrazione (fino a 17-18 ug/m<sup>3</sup> di TC) nei mesi di Novembre, Dicembre e Gennaio, in concomitanza dei più alti valori di PM10 e PM2.5. Entrambi i componenti risultano prevalentemente distribuiti nel PM2.5, dove OC e EC coprono l’83% e il 69%, rispettivamente, della concentrazione totale misurata nel PM10.

Nell’intero arco temporale esaminato, OC (prevalentemente associato a processi secondari da precursori gassosi o volatili) presenta livelli di concentrazione più alti di EC (marker specifico delle emissioni primarie da processi di combustione). Il valore medio della concentrazione di EC nel PM10 raccolto a San Rossore (minore di 1.0 ug/m<sup>3</sup>) risulta decisamente inferiore ai livelli di EC (maggiori di 3.0 ug/m<sup>3</sup>) misurati in altri centri urbani della Regione Toscana gravati da intenso traffico veicolare.

# Abbattimento dell'interferenza di ioni metallici e di acidi carbossilici, nell'analisi di pesticidi mediante biosensore ad inibizione, operando in solvente organico

L. Campanella, D. Lelo, E. Martini, M. Tomassetti

Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza", P.le A.Moro 5, 00185, Roma.

Negli ultimi anni sono state condotte numerose ricerche sui biosensori ad inibizione per l'analisi di pesticidi, soprattutto della classe dei triazinici, degli organofosforici e dei carbammati.

In pratica il funzionamento di tutti questi biosensori è basato sulla misura del grado di inibizione dell'attività enzimatica. La principale difficoltà, che spesso insorge nell'applicazione di questi biosensori all'analisi di campioni reali, è spesso dovuta alla scarsa solubilità, in soluzione acquosa, di parecchi di questi pesticidi. Il recente sviluppo degli OPEEs (organic phase enzyme electrodes) ha ovviato a questo inconveniente. Il nostro gruppo di ricerca ha progettato e realizzato, a questo scopo, diversi OPEE ad inibizione, l'ultimo dei quali, da noi realizzato, è basato sull'inibizione dell'enzima tirosinasi, operando in cloroformio [1, 2].

Rispetto ai comuni sensori enzimatici ad inibizione anche gli OPEE ad inibizione presentano diversi vantaggi, comuni a tutti i sensori enzimatici operanti in solvente organico: hanno una maggiore stabilità termica, non subiscono attacchi batterici, non necessitano di immobilizzazione enzimatica basata su legami covalenti.

Si è voluto ora studiare se, per questo tipo di biosensori, anche l'interferenza da parte di alcune specie, molto spesso presenti nelle matrici reali, non potesse essere superata, o almeno minimizzata, operando in un solvente quale cloroformio, anziché in acqua.

Nella presente ricerca l'attenzione è stata quindi focalizzata soprattutto su due punti di estremo interesse: innanzitutto sullo studio di alcuni potenziali inibitori dell'enzima tirosinasi costituiti, soprattutto da diversi ioni di metalli pesanti, o da acidi carbossilici, quale il cinnamico, il sorbico ed il benzoico, che possono appunto interferire nell'analisi ad inibizione dei pesticidi; in secondo luogo su un confronto approfondito per stabilire se, la possibilità di effettuare l'analisi in solvente organico, quale il cloroformio, anziché in soluzione acquosa (dopo estrazione dei pesticidi dalla fase acquosa con cloroformio stesso) possa costituire, o no, un vantaggio, quando si effettui la determinazione dei pesticidi triazinici, organofosfati e carbammati, in presenza dei possibili interferenti sopra ricordati. I positivi risultati ottenuti hanno sostanzialmente confermato questa ipotesi.

1. Campanella L., Dragone R., Lelo, D., Martini E., Tomassetti M., *Anal. Bioanal. Chem* **2006**, 384, 915-921.
2. Campanella, L., Lelo D., Martini E., Tomassetti M. *Anal. Chim. Acta.* **2007**, 587, 22-32.

## Rifiuti industriali e qualità delle acque di falda. Il caso dell'acquedotto Chieti - Pescara

*P. Costa*, \* *F. Croce*, † *S. Insogna*, \* *L. Zoccolillo* \*

\* Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza", P.le A. Moro, 5 – 00185 Roma

† Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università "G. D'Annunzio" Chieti-Pescara, Via dei Vestini, 31 – 66013 Chieti

Verso la metà del 2007 è stato portato all'attenzione dell'opinione pubblica della Val Pescara un grave problema di contaminazione dell'acquedotto che rifornisce l'intera popolazione della vallata, comprese le città di Chieti e Pescara e numerose località costiere di villeggiatura. Il problema è stato causa di gravi disagi per i cittadini delle due province e di dubbi sul comportamento etico delle istituzioni preposte alla salvaguardia dell'ambiente e della salute. Causa della contaminazione dell'acquedotto erano due mega discariche abusive di rifiuti industriali insistenti a monte della falda da cui veniva prelevata una parte dell'acqua, per circa il 30% della portata totale dell'acquedotto, e immessa nella condotta principale. Ad oggi, con la chiusura definitiva dei pozzi inquinati, il problema sembra essere stato risolto almeno per quanto riguarda l'acqua di rete distribuita nelle due province.

L'acqua distribuita nelle due province risultava essere altamente contaminata da alcuni idrocarburi clorurati nonostante alla fine del 2006 fossero stati inseriti dei filtri a carbone attivo sulla condotta supplementare proveniente dai pozzi a valle delle discariche. Dopo la chiusura dei pozzi a valle della discarica, anche perché si era nel frattempo provveduto a convogliare nell'acquedotto acqua supplementare non inquinata prelevata a monte della discarica stessa, la qualità dell'acqua di rete nelle due province è nettamente migliorata, pur permanendo quantità residue delle specie contaminanti in concentrazioni di gran lunga inferiori ai limiti di legge. In figura 1 è riportato l'andamento della concentrazione nell'acqua di rete di uno degli idrocarburi clorurati misurati nel periodo marzo 2007-marzo 2008.

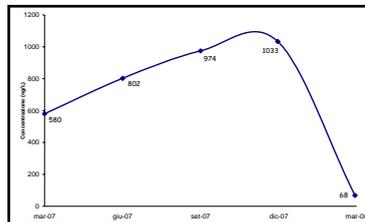


Figura 1: Andamento della concentrazione nell'acqua di rete del tetracloroetilene nel periodo marzo 2007-marzo 2008.

La descrizione del fenomeno dal punto di vista scientifico è stata effettuata con un'accurata campagna di campionamento che ha messo in evidenza in particolare come: a monte della discarica la qualità dell'acqua era ed è vicina agli standard attuali delle acque superficiali e di falda esenti da fonti di inquinamento puntiforme; a valle della discarica l'acqua di falda è inquinata. Per la determinazione delle sostanze organiche clorurate è stata impiegata una tecnica sviluppata nel nostro laboratorio in un precedente lavoro [1].

Dal punto di vista ambientale permane il grave problema a valle della discarica e il risanamento della falda richiederà grandi risorse a carico della collettività e notevole tempo.

1. L. Zoccolillo, L. Amendola, G.A. Tarallo, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* **1996**, 63, 91-98.

# **Idrocarburi clorurati volatili nell'ambiente. Determinazione e valutazione del rapporto di concentrazione atmosfera / ambiente acquatico tra zone temperate e Antartide**

*L. Amendola, S. Insogna, L. Zoccolillo*

Dipartimento di Chimica, Università "La Sapienza", P.le A. Moro, 5 – 00185 Roma

Gli idrocarburi clorurati volatili (VCHC) sono diventati, a causa delle ingenti emissioni in atmosfera e in considerazione della vita media moderatamente lunga, una classe di contaminanti a diffusione planetaria. Tali composti possono dare luogo a fenomeni di accumulo nelle aree più fredde della Terra caratterizzate da una attività fotochimica ridotta, dove potrebbero produrre effetti ecotossici.

Scopo del lavoro è valutare il destino ambientale dei VCHC sia in un contesto globale, basato sui cicli naturali di distillazione, sia in un contesto specifico come quello antartico. Altro obiettivo è determinare i VCHC all'interfaccia aria/acqua e aria/neve, sia alle condizioni climatiche delle zone temperate che a quelle delle zone remote. Sono stati pertanto messi a punto e ottimizzati i metodi analitici per la determinazione dei VCHC a livello di tracce nelle suddette matrici. Per l'analisi dei VCHC in matrici acquose è stata impiegata una linea analitica messa a punto in un precedente lavoro [1].

In questo lavoro sono stati studiati aspetti specifici del campionamento e dell'analisi dei VCHC in aria. Il campionamento è stato effettuato mediante canister e pompa a membrana, apportando su tale strumentazione alcune modifiche per renderla adatta alle condizioni climatiche delle zone remote. È seguita la realizzazione di un sistema per l'analisi dei VCHC in aria a livello di ppt v/v, costituito da un dispositivo "cryofocusing trap injector" accoppiato a una gas-massa (CTI-GC-MS). Il dispositivo iniettore deriva da un originario purge-and-trap cui sono state apportate delle modifiche per renderlo adatto all'analisi dell'aria, permettendo la preconcentrazione dei composti volatili presenti in aria, mediante una trappola alimentata ad azoto liquido, e la successiva iniezione in colonna per rapido desorbimento termico.

I risultati ottenuti da campioni di aria, acqua e neve prelevati sia in Italia che in Antartide confermano l'ubiquità ambientale dei VCHC e i rapporti di concentrazione atmosfera/ambiente acquatico sono sempre inferiori a 1. Di conseguenza i VCHC tendono a risiedere nell'ambiente acquatico, pertanto hanno contaminato tutte le acque, sia superficiali che di falda [1-4], e attraverso i cicli di distillazione e la circolazione delle masse d'aria raggiungono le zone più fredde e remote della Terra dove tendono ad accumularsi sulla neve.

1. L. Zoccolillo, L. Amendola, C. Cafaro, S. Insogna *J. Chromatogr. A* **2005**, 1077, 181-187.
2. L. Zoccolillo, C. Abete, L. Amendola, R. Ruocco, A. Sbrilli, M. Termine *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **2004**, 84, 513-522.
3. L. Zoccolillo, L. Amendola, C. Cafaro, S. Insogna *Chemosphere* **2007**, 67, 1897-1903.
4. L. Zoccolillo, C. Abete, C. Cafaro, S. Insogna *Microchemical Journal in press*.

## Dissoluzioni selettive sequenziali per la determinazione di composti inorganici di tallio nel particolato atmosferico e nell'aria degli ambienti di lavoro

*M. Sturini, A. Profumo, F. Maraschi, L. Cucca, G. Spini*

Dipartimento di Chimica Generale, Università di Pavia, Via Taramelli 12, 27100 Pavia (PV)  
michela.sturini@unipv.it

E' descritta una procedura per la determinazione di composti inorganici di tallio aerodispersi (sali solubili di Tl(I) e Tl(III), Tl(0) e composti insolubili di Tl(III)), rivolgendo l'attenzione, in particolare, agli ambienti di lavoro e alle emissioni. La procedura di speciazione prevede una serie di estrazioni selettive e sequenziali che permettono la separazione e la determinazione delle varie specie di tallio considerate. La normativa ad oggi vigente fissa un limite di concentrazione massima ammissibile solo per il tallio totale, come indicato da ACGIH e OSHA ( $0.1 \text{ mg m}^{-3}$ )<sup>1</sup>, ignorando completamente il concetto di speciazione e la diversa tossicità delle differenti specie chimiche: recenti studi hanno messo in evidenza che il Tl(III) risulta più tossico del Tl(I)<sup>2,3</sup>. La determinazione del tallio totale non fornisce inoltre informazioni circa la sua biodisponibilità e mobilità ambientale.

La procedura di speciazione è stata messa a punto sui diversi composti di tallio in miscela, opportunamente diluiti in una matrice inerte e testata su un campione di riferimento certificato fly ash (SRM 1633a); successivamente è stata applicata a differenti matrici anche arricchite (particolato atmosferico e materiale di riferimento certificato).

Sono stati separati i composti di tallio in base al loro stato di ossidazione (Tl(I), Tl(0), Tl(III)), senza differenziare composti di Tl(III) solubili da quelli insolubili (es.  $\text{Tl}_2\text{O}_3$ ), ed è stato studiato l'effetto interferente dei solfuri e della silice.

La concentrazione di tallio in ogni frazione è stata determinata mediante ICP-OES e ICP-MS. Il recupero per le differenti specie è risultato compreso tra il 91% e il 98%.

1. M.S. Villaverde, S.V. Verstraeten *Archives of Biochemistry and Biophysics* **2003**, 417, 235
2. C.E. Hanzel, S. V. Verstaeten *Toxicology and Applied Pharmacology* **2006**, 216, 485
3. Threshold Limit Value and Biological Exposure ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists **2006**

## L'impiego di materiali di scarto per rimuovere 2,4,6-tricloroanilina da reflui.

*M. Benzi, P. Frascarolo, V. Gianotti, F. Gosetti, M. Bottaro, E. Mazzucco, M.C. Gennaro*

Università del Piemonte Orientale, DISAV Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita,  
Via Bellini 25/G, 15100 Alessandria.

Si è sperimentata la capacità di alcuni materiali di scarto, disponibili a costo nullo o molto basso, a trattenere la 2,4,6-tricloroanilina.

I materiali sono farinaccio, crusca, segatura e cenere di legno e la 2,4,6-tricloroanilina è stata scelta come esempio di inquinante organico solubile in acqua ( $40 \text{ mg L}^{-1}$ ) e con proprietà prevalentemente lipofile ( $\log K_{ow} = 3.52$ ) nell'intervallo di pH di soluzioni acquose.

L'entità del trattenimento è stata valutata mediante analisi indiretta HPLC di una soluzione di 2,4,6-tricloroanilina posta a contatto con il materiale, secondo le metodiche già utilizzate per valutare adsorbimenti su argille [1,2,3].

I risultati indicano che per soluzioni acquose la capacità di trattenimento varia tra  $9.1 \text{ g Kg}^{-1}$  per la crusca e  $10.0 \text{ g Kg}^{-1}$  per la segatura: questi valori sono simili a quelli che si ottengono su carbone attivo e maggiori rispetto alla capacità della caolinite.

Esperimenti di desorbimento mostrano che il trattenimento è irreversibile per azione di diversi agenti dilavanti, quali acqua, soluzione  $1.0 \text{ mM}$  di  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e miscela acqua/metanolo 50/50 v/v.

*Si ringraziano l'Associazione ATF (Ambiente, Territorio e Formazione) della Provincia di Alessandria e il MIUR (Ministero dell'Università e della Ricerca).*

1. S. Angioi, S. Polati, M. Roz, C. Rinaudo, V. Gianotti, M.C. Gennaro *Environ. Pollut.* **2005**, *134*, 35-43.
2. S. Polati, S. Angioi, V. Gianotti, F. Gosetti, M.C. Gennaro, *J. Environ. Sci. Heal. B* **2006**, *41*, 333-334.
3. S. Polati, F. Gosetti, V. Gianotti, M.C. Gennaro, *J. Environ. Sci. Heal. B* **2006**, *41*, 765-779.

## Studi di idrolisi e di fotodegradazione di 4-cloroanilina

*M. Bottaro, F. Gosetti, V. Gianotti, E. Mazzucco, P. Frascarolo, M.C. Gennaro*

Università del Piemonte Orientale, DISAV Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Vita,  
Via Bellini 25/G, 15100 Alessandria

Solo recentemente la potenziale tossicità delle cloroaniline presenti in acque e suoli ha ricevuto adeguato interesse in chimica ambientale. Pur essendo le cloroaniline considerate inquinanti persistenti, data la loro buona solubilità in acqua, la loro concentrazione nelle acque risultava inferiore alla soglia di legge. D'altro canto le cloroaniline sono specie ubiquitarie, sia perché sono ampiamente usate nella sintesi di pigmenti e vernici e nell'industria farmaceutica, sia perché si formano per degradazione di pesticidi fenilureici.

Accanto a studi volti alla loro identificazione e determinazione nelle acque [1,2], altri recenti studi sono dedicati a loro reazioni di idrolisi e fotodegradazione che portano alla formazione di diversi prodotti, identificati mediante analisi gas cromatografica con rivelazione in spettrometria di massa. I risultati di letteratura non sono concordi nella identificazione dei prodotti, presumibilmente a causa di diverse condizioni utilizzate. L'irraggiamento viene effettuato sia mediante lampada UV che lampada fluorescente, sia in presenza che in assenza di catalizzatori. Inoltre sia per la preparazione delle soluzioni sia per l'estrazione dei prodotti di degradazione prima dell'analisi gascromatografica, si utilizzano solventi organici che possono facilmente influenzare il cammino degradativo.

Allo scopo di valutare i processi degradativi indotti naturalmente nell'ambiente per effetto sia dell'irraggiamento solare che di reazioni di idrolisi, si sono effettuate due serie di esperimenti su soluzioni acquose di 4-cloroanilina sia sottoponendole ad irraggiamento in solar box in condizioni che simulano irraggiamento solare e conservandole al buio per gli stessi tempi. Le soluzioni sono quindi analizzate senza ulteriori trattamenti.

Mediante tecnica HPLC-DAD è stato possibile seguire la diminuzione progressiva del segnale della 4-cloroanilina e la formazione di nuovi picchi cromatografici, sia nella soluzione conservata al buio che in quella sottoposta ad irraggiamento. Il livello di degradazione dovuto a sole reazioni di idrolisi corrisponde a circa il 10% dell'effetto totale.

I tempi di dimezzamento sono rispettivamente  $t_{1/2} = 28.9$  min per la reazione di fotoirraggiamento e circa 28 giorni per la reazione di idrolisi.

I principali prodotti di degradazione sono stati identificati mediante tecnica HPLC-MS/MS.

*Si ringraziano l'Associazione ATF (Ambiente, Territorio e Formazione) della Provincia di Alessandria, il MIUR (Ministero dell'Università e della Ricerca) e la Regione Piemonte- Fondi CIPE (Comitato Interministeriale per la Programmazione Economica).*

1. E. Marengo, M.C. Gennaro, V. Gianotti, E. Prenesti *J. Chromatogr. A* **1999**, 863, 1-11.
2. M.C. Gennaro, E. Marengo, V. Gianotti, S. Angioi *J. Chromatogr. A* **2002**, 945, 287-292.

## Levoglucosan nell'aerosol urbano in Italia

R. Zangrando<sup>\*</sup>, A. Gambaro<sup>\*†</sup>, E. Bolzacchini<sup>•</sup>, M.G. Perrone<sup>•</sup>, P. Cescon<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup> Dipartimento di scienze Ambientali, Università di Venezia, Santa Marta 2137, 30123, Venezia

<sup>†</sup> Istituto per la Dinamica dei processi Ambientali CNR, Dorsoduro 2137, 30123, Venezia

<sup>•</sup> Dipartimento di scienze Ambientali, Università della Bicocca, piazza della Scienza 1, 20126, Milano

L'aerosol atmosferico ha un ruolo importante nella chimica dell'atmosfera e sul clima del pianeta, sia in modo diretto (a causa della loro capacità di assorbire e disperdere la luce) che indiretto (riesce ad assorbire la luce).

Il levoglucosan (1,6-anhydro- $\beta$ -D-glucopyranose) è un prodotto della combustione della cellulosa, soprattutto quando questa è riscaldata al di sopra dei 300°C e subisce vari processi pirolitici. Il levoglucosan è un tracciante molecolare specifico utilizzato per l'identificazione del particolato prodotto dalla combustione di biomassa. Esso non può essere generato da processi che non prevedano la combustione e non può essere generato da combustioni che non utilizzino legno come combustibile. Il levoglucosan inoltre è un ottimo tracciante per gli studi del trasporto long range in quanto la sua stabilità in atmosfera è stimata superiore ai 10 giorni.

In questo studio è stata determinata la concentrazione di levoglucosan in PM proveniente da diverse zone italiane: l'Isola di Mazzorbetto nel nord della laguna di Venezia, in estate (luglio-agosto 2005) e nell'area urbana di Milano in inverno (Febbraio 2006).

L'analisi dei campioni è stata condotta mediante HPLC/(-)ESI-MS/MS, utilizzando un cromatografo liquido Agilent 1100 series HPLC system (Agilent, Waldbronn, Germany) accoppiato ad uno spettrometro di massa a triplo quadrupolo API 4000 (Applied Biosystems/MDS SCIEX, Toronto, Ontario, Canada). I dati sono stati acquisiti in polarità negativa mediante multiple reaction monitoring (MRM). La quantificazione dei campioni è stata ottenuta utilizzando il metodo dello standard interno, impiegando le trazioni 161/113 m/z per il levoglucosan and 167/118 m/z per levoglucosan marcato <sup>13</sup>C. Il metodo è stato validato, valutando accuratezza, precisione e la resa della procedura analitica mediante l'analisi di 5 campioni ripetuti preparati aggiungendo 4  $\mu$ g assoluti di levoglucosan e 3.94  $\mu$ g assoluti di levoglucosan marcato: errore medio è stato calcolato essere del 5%, la precisione del 3%, la resa dell'80  $\pm$  3%. Il LOD procedurale è di 2.87 pg assoluti ed il LOQ di 7,4 pg assoluti.

I filtri campionati sono stati estratti in acqua ultrapura e dopo filtrazione l'estratto direttamente iniettato ed analizzato. Il TSP (total suspended particles) della Laguna di Venezia è stato raccolto giornalmente (24h) usando un campionatore ad alto volume (500 l/min); a Milano i campioni di PM<sub>2.5</sub> e PM<sub>10</sub> sono stati raccolti giornalmente (24h) impiegando un campionatore a doppia linea a basso volume (38.3 l/min).

Il range di concentrazioni nell'aerosol della laguna di Venezia varia fra 3.3 ng m<sup>-3</sup> e 21.0 ng m<sup>-3</sup>, una concentrazione media di 9.2 ng m<sup>-3</sup>. A Milano la concentrazione in inverno varia fra 274.3 ng m<sup>-3</sup> e 1373 ng m<sup>-3</sup>, una concentrazione media di 766.9 ng m<sup>-3</sup>. Il levoglucosan rappresenta circa 1% della massa totale del particolato per entrambi i campioni di PM<sub>2.5</sub> e PM<sub>10</sub>. La concentrazione più bassa trovata nell'area urbana milanese è 10 volte più alta della maggiore riscontrata a Venezia e ciò si può spiegare in due modi: la diversa posizione geografica e il diverso periodo di campionamento.

## A study on the acid-base properties of pectin and poly-galacturonic acid

*S. Cataldo*<sup>a</sup>, *A. Gianguzza*<sup>a</sup>, *A. Pettignano*<sup>a</sup>, *D. Piazzese*<sup>a</sup>, *S. Sammartano*<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica “Stanislao Cannizzaro”. Università di Palermo, Viale delle Scienze, I-90128 Palermo, Italy

<sup>b</sup> Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica. Università di Messina, Salita Sperone 31, I-98166, Messina (Vill. S. Agata), Italy

Pectin is an acidic polysaccharide constituted by monomer units of galacturonic acid. It is a main component of peel fruits where is present as protopectin. Due to the presence of a high number of carboxylic binding sites in its structure, pectin shows a good sequestering capacity towards metal ions [1]. To quantitatively define the interaction capacity of pectin with metal ions, the proton exchange capacity of pectin must be known. To this end, acid-base behaviour of a commercial pectin, (esterified potassium salt from Citrus fruit, by Sigma cod. P9311) was investigated by  $[H^+]$ -glass electrode potentiometric technique in the ionic strength range 0.1 to 0.75 mol L<sup>-1</sup> (NaCl ionic medium) at 25.0(±0.1) °C. Since pectin is expected to behave as poly-galacturonic acid, analogous investigations were carried out also to determine protonation constants of poly-galacturonic acid in the same ionic strength range and in Et<sub>4</sub>NI and NaCl ionic media. As expected, the results obtained confirm a similar behaviour of the two polyelectrolytes under investigation. By using the following Debye-Hückel type equation  $\log K^H = \log^T K^H - (0.509 \times z^* \sqrt{I}) / (1 + 1.5\sqrt{I}) + CI$  it was possible to evaluate the dependence on ionic strength of protonation constants for both polyelectrolytes and to calculate the protonation constants at infinite dilution. Calculations performed using the same equation allowed us also to calculate the effective average charge of the polyelectrolytes equal to -3.5. Results obtained in investigating pectin and poly-galacturonic acid are comparable with those obtained in a previous study [2] on the acid-base properties of alginic acid which is, like pectin, an acidic polysaccharide constituted by mannuronic and guluronic monomer units. After we defined the proton exchange capacity of pectin and poly-galacturonic acid, the interaction of these two polyelectrolytes with cadmium(II) ion was investigated in order to establish the stability of complex species formed. Measurements were performed by ISE-Cd<sup>2+</sup> electrode at 0.1 mol L<sup>-1</sup> ionic strength (NaNO<sub>3</sub> medium) at different metal-ligand concentration ratios. Results obtained show a very good accordance between formation constants values of pectin-cadmium and poly-galacturonic-cadmium species formed, confirming the similarity of acid-base behaviour of the two polyelectrolytes investigated and, therefore, the possibility of using poly-galacturonic acid as model molecule representative of naturally occurring pectin.

1. Kartel M. T., Kupchik L. A., Veisov B. K. *Chemosphere*. 1999, **38**(11), 2591-2596.
2. De Stefano C., Gianguzza A., Piazzese D. and Sammartano S. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2005, **383**, 587-596.

## Progetto per la validazione del grado di complessazione dei metalli in acque ambientali

G. Alberti\*, M. Pesavento\*, R. Biesuz\*, D. Monticelli†, C. Dossi†

\*Università di Pavia, Dipartimento di Chimica Generale, via Taramelli 12 27100 Pavia

†Università dell'Insubria, Dip. Scienze Chimiche e Ambientali, via Valleggio, 11 - 22100 Como

La distribuzione dei metalli tra diverse specie determina il loro comportamento chimico. In particolare, nelle acque naturali, la conoscenza dello stato di complessazione degli elementi in traccia è estremamente importante per la comprensione dei cicli geochimici e biologici nei quali essi sono coinvolti. Esistono diverse classi di leganti naturali che si distinguono per caratteristiche chimiche, origine, concentrazione e stabilità dei loro complessi. In parecchie acque naturali si è trovato che molti metalli sono complessati con leganti forti, presenti a bassa concentrazione, dello stesso ordine di grandezza di quella dei metalli, a volte leggermente inferiore. A dispetto della loro bassa concentrazione, questi complessi risultano dominare la speciazione del metallo, data l'elevata costante di stabilità.

Differenti approcci sperimentali sono stati proposti per individuare la distribuzione delle specie di metallo-ioni; spesso si ottengono risultati non paragonabili, e altrettanto difficile è comprenderne l'esatto significato.

Nel presente progetto di collaborazione si vuole presentare un confronto fra risultati che si ottengono da soluzioni modello (acque a diversa forza ionica, in presenza di vari leganti a differente capacità complessante e con concentrazioni di metalli a livello di tracce) utilizzando due diversi metodi: la tecnica elettroanalitica di stripping catodico adsorbitivo (CLE-AdCSV) e un metodo di competizione per adsorbimento su fase solida.

Il protocollo di validazione si svolge in parallelo coinvolgendo i due gruppi di ricerca e si articola secondo il seguente schema:

- Preparazione di soluzioni sintetiche contenenti concentrazioni note di metalli e uno o più leganti organici e/o inorganici a diversa forza complessante.
- Calcolo della concentrazione di metallo libero nelle soluzioni sintetiche preparate, mediante programmi attualmente molto diffusi nel campo della speciazione
- Analisi delle soluzioni sia con il metodo per competizione in fase solida (presso i laboratori di chimica analitica dell'Università di Pavia), sia con la tecnica CLE-AdCSV (presso i laboratori dell'Università dell'Insubria di Como).
- Per entrambe le tecniche, confronto dei risultati ottenuti con i valori calcolati.
- Nel caso di buon accordo tra i risultati sperimentali, ottenuti con entrambe le tecniche ed i valori calcolati, si proseguirà con l'analisi di campioni reali. In particolare si prevede di determinare la speciazione in campioni di acque naturali prelevate sia nei dintorni dei laboratori sia quelle ottenute da un campionamento in Antartide.

*Ringraziamenti: Finanziamento PRNA, Progetto PEA 2006 (MIUR).*

## Studio della complessazione tra ioni $Mg^{2+}$ e monoidrogenosalicilato

R. Cimino, E. Furia, R. Porto \*

Dipartimento di Chimica, Università della Calabria, Via P. Bucci, 87036 Arcavacata di Rende (CS)

E-mail: e.furia@unical.it

\*Questo lavoro è dedicato alla Professoressa Raffaella Porto  
venuta a mancare improvvisamente il 18 Maggio 2008.

Il presente lavoro fa parte di un progetto più ampio che prevede la valutazione delle costanti di formazione di complessi metallo–legante d'interesse naturale. In particolare, l'obiettivo è stato quello di studiare la complessazione dello ione  $Mg^{2+}$  con il monoidrogenosalicilato di sodio, utilizzando il metodo del *Self-Medium*<sup>1</sup>. Tale metodo prevede che una delle specie che partecipano all'equilibrio, nel nostro caso il legante, funga da mezzo ionico. La scelta di lavorare in *Self-Medium* è stata dettata dal fatto che misure preliminari condotte in 1 moldm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub> hanno evidenziato la formazione di complessi poco stabili con il salicilato.

La formazione dei complessi tra il metallo ed il legante può essere rappresentata nel modo più generale da:



a cui è associata la generica costante  $\beta_{pqr}$ .

Tutte le misure sono state condotte sotto forma di titolazione potenziometrica, a 25°C, utilizzando la cella (G):



dove GE rappresenta l'elettrodo di vetro, RE è l'elettrodo di riferimento di composizione: Ag/AgCl/0.01 moldm<sup>-3</sup> AgClO<sub>4</sub>, 0.99 moldm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub>/1 moldm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub>. Le soluzioni test, TS, avevano la seguente composizione generale:

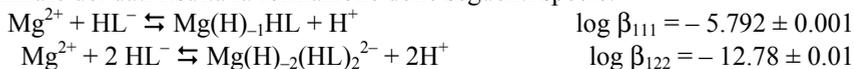


dove  $C_M$  è la concentrazione analitica del metallo,  $C_A$  e  $C_B$  sono, rispettivamente, le concentrazioni analitiche dell'acido salicilico e della base forte.

Nel corso di ogni titolazione l'acidità è stata gradualmente diminuita in seguito alla generazione coulombometrica di ioni  $OH^-$  *in situ*. Ogni titolazione si è protratta fino alla precipitazione di una specie neutra, caratterizzata successivamente attraverso spettroscopia di risonanza magnetica nucleare.

La ricerca delle costanti di formazione è stata condotta sia con la procedura grafica<sup>2</sup> che con quella numerica<sup>3</sup>.

Da un'analisi preliminare dei dati risulta la formazione delle seguenti specie:



L'incertezza sulla determinazione rappresenta  $3\sigma$ .

1) S.Hietanen, L.G.Sillén, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 533, (1959).

2) L.G. Sillén, *Acta Chem. Scand.*, **10**, 186, (1956).

3) Gans, A. Sabatini e A. Vacca, *J. Chem. Soc.*, 1195, (1985).

## Solubilità, Proprietà Acido-Base e Coefficienti di Attività del Chitosano in soluzione acquosa a 298.15 K

F. Crea,<sup>\*</sup> A. Gianguzza,<sup>†</sup> D. Piazzese,<sup>†</sup> S. Sammartano<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica. Università di Messina, Salita Sperone 31, I-98166, Messina (Vill. S. Agata), Italy

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica "Stanislao Cannizzaro". Università di Palermo, Viale delle Scienze, I-90128 Palermo, Italy

La conoscenza della solubilità, delle proprietà acido-base e dei coefficienti di attività dei composti organici ed inorganici è indispensabile per ottenere informazioni sul loro comportamento in soluzione acquosa, ma anche per indagare attraverso modelli opportuni la loro capacità legante nei principali sistemi biologici ed ambientali. Lo studio della solubilità e delle proprietà acido-base del chitosano si inserisce in una serie di studi condotti dal nostro gruppo di ricerca sulla solubilità e sulle proprietà acido-base di alcuni leganti non elettrolitici in differenti mezzi ionici ed a differenti valori di forza ionica [1-4]. Il chitosano è un eteropolimero costituito da unità di glucosammina e di acetilglucosammina, che si ottiene da processi di deacetilazione alcalina della chitina, che è uno dei componenti principali dello scheletro di insetti e crostacei o delle pareti cellulari di funghi e batteri. E' oggetto di numerosi studi dal momento che è un biomateriale largamente utilizzato in applicazioni ambientali, nell'industria tessile e nell'industria farmaceutica [5,6]. Nell'intervallo di pH di interesse dei sistemi acquosi naturali, i gruppi amminici del chitosano si presentano in forma protonata. La solubilità del chitosano è stata determinata in soluzioni acquose di NaCl a differenti valori di forza ionica ( $0 < I/\text{mol L}^{-1} < 3$ ) ed alla temperatura di 298.15 K, mentre le proprietà acido - base sono state indagate in soluzioni acquose di NaCl ed  $\text{NaNO}_3$  in un intervallo di forza ionica  $0.1 < I/\text{mol L}^{-1} < 0.5$ . I dati di solubilità, in accordo a Long e McDevit [7] ci hanno consentito di determinare i coefficienti di attività e le costanti di Setschenow del chitosano. La dipendenza delle costanti di protonazione e dei coefficienti di attività dalla forza ionica è stata trattata attraverso il modello delle Interazioni Specifiche (SIT) e i coefficienti di interazione SIT sono stati riportati insieme con le costanti a diluizione infinita. La dipendenza delle costanti di protonazione dal mezzo ionico è stata valutata in termini di formazione di complessi deboli tra i gruppi amminici del chitosano e gli anioni  $\text{Cl}^-$  ed  $\text{NO}_3^-$  del mezzo ionico.

1. C. Bretti, F. Crea, C. Foti, S. Sammartano *J. Chem. Eng. Data.* **2005**, *50*, 1761-1767.
2. C. Bretti, F. Crea, C. Foti, S. Sammartano *J. Chem. Eng. Data.* **2006**, *51*, 1660-1667.
3. C. Bretti, A. Giacalone, A. Gianguzza, D. Milea, S. Sammartano *Fluid Phase Equil.* **2007**, *252*, 119-129.
4. C. Bretti, R.M. Cigala, F. Crea, C. Foti, S. Sammartano *Fluid Phase Equil.* **2008**, 43-54
5. I.M.V. Vold, K.M. Vårum, E. Guibal, O. Smidsrod. *Carb. Polymers*, **2003**, *54*, 471 - 477.
6. R. Navarro, J. Guzmán, I. Saucedo, J. Revilla, E. Guibal. *Macromol. Biosci.*, **2003**, *3*, 552-561
7. F.A. Long, W.F. McDevit *Chem. Rev.*, **1952**, *51*, 119 - 169.

## La tecnica AGNES per la determinazione dello zinco in acque di fiume. Validazione del metodo.

*F. Zavarise*, \**E. Companys*<sup>†</sup>, *J. Galceran*<sup>†</sup>, *G. Alberti*<sup>\*</sup>, *A. Profumo*<sup>\*</sup>

\* Dipartimento di Chimica Generale, Università di Pavia, via Taramelli 12, 27100 Pavia, Italy

<sup>†</sup> Departament de Química, Universitat de Lleida, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, Spain

In questo lavoro è stata applicata la recente tecnica AGNES<sup>1</sup> (Absence of Gradient and Nerstian Equilibrium Stripping) per la determinazione di zinco in acqua di fiume. Questa tecnica permette di determinare l'attività dello ione libero, diventando quindi un metodo complementare o alternativo all'utilizzo di elettrodi ione selettivi (ISE) e risulta utile soprattutto nei casi in cui non esistono ISE commerciali, come appunto per lo zinco.

La tecnica AGNES è costituita da due fasi: un primo step in cui si preconcentra il metallo all'interno della goccia di mercurio raggiungendo condizioni di assenza di gradiente di concentrazione ed equilibrio nerstiano (applicazione di un potenziale nerstiano  $E_1$  per un tempo  $t_1$  dipendente dal rapporto di preconcentrazione voluto,  $Y$ ) ed un secondo step in cui si ha la fase di stripping (applicazione di un potenziale  $E_2$  per un tempo  $t_2$ ).

Dapprima sono state effettuate calibrazione in soluzioni di  $KNO_3$  a bassa forza ionica  $\mu$  ( $\mu = 0.1, 0.001, 0.005, 0.0001$ ), determinando il valore di  $h$  (rapporto tra corrente faradica e concentrazione dello ione libero). Per forze ioniche comprese tra 0.1 e 0.005 non sono stati rilevati problemi durante la misura ed è stato ottenuto un valore di  $h$  pari a circa 0.1 ( $h_{media} = 0.105$ ). Nel caso di  $\mu = 0.001$  si è ottenuto "sluggish stripping" con saturazione della goccia di mercurio, dovuto probabilmente alla bassa conducibilità<sup>2</sup>.

Effettuata quindi la calibrazione per determinare  $h$  a diverse  $\mu$ , si è determinato lo zinco libero in soluzioni sintetiche contenenti zinco  $10^{-6}$  M in presenza di concentrazione variabile (fino  $2 \cdot 10^{-5}$  M) di un complessante, PDCA, a pH controllato e intorno a 6. Le concentrazioni di zinco libero misurate erano in buon accordo con quelle calcolate.

La tecnica AGNES è stata quindi applicata prima a soluzioni sintetiche simulanti acque naturali (preparate seguendo le indicazioni di Davison<sup>3</sup>) e successivamente a acque naturali campionate dal fiume Ebro in Flix, Catalonia, Spagna.

1. J. Galceran, E. Companys, J. Puy, J. Cecilia, J.L. Garces. *J. Electr. Chem.* **2004** 566, 95-109.
2. Silva S. M., Bond A.M. *Anal. Chim. Acta.* **2003**, 500, 307-321.
3. Smith E.J., Davison W., Hamilton-Taylor J. *Water Research* **2002**, 36, 1286-1296.

## Capacità sequestranti dello ione fitato nei confronti dei lantanidi

F. Crea, P. Crea, C. De Stefano, D. Milea, S. Sammartano

Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica - Università di Messina  
Salita Sperone 31, 98166 Messina, Vill. S. Agata

L'acido mio-inositolo esaforico, meglio conosciuto come acido fitico, è una molecola di grande interesse biologico e tecnologico-ambientale. Per una completa conoscenza degli equilibri in soluzione riguardanti questo legante è stato necessario un accurato studio del suo comportamento acido-base e della formazione e stabilità dei suoi complessi. Sfortunatamente, in letteratura vi sono gravi lacune riguardanti i dati termodinamici dei complessi formati dall'acido fitico ed inoltre vi sono grandi differenze di risultati tra i diversi autori. Questo ha motivato il nostro gruppo di ricerca ad intraprendere una dettagliata valutazione dei dati presenti in letteratura finalizzata ad identificare i dati termodinamici più accurati ed attendibili sulla chimica di coordinazione dell'acido fitico e dei suoi sali. Recentemente sono stati presentati in una review [1] i risultati di questa indagine, riportando e analizzando i più significativi parametri termodinamici che sono stati pubblicati sulla protonazione e sulla formazione di complessi con metalli, cationi organo-metallici e poliammine. Da questo lavoro è emerso che molto ancora deve essere studiato sulle proprietà termodinamiche dell'acido fitico.

In questo contributo si riportano i risultati di uno studio termodinamico condotto sull'acido fitico in presenza di alcuni lantanidi ( $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Nd}^{3+}$ ,  $\text{Sm}^{3+}$ ,  $\text{Dy}^{3+}$ ,  $\text{Yb}^{3+}$ ). L'importanza di questi elementi è legata al loro utilizzo in campo industriale come additivi o come catalizzatori, e alla loro media tossicità. Le costanti di stabilità delle specie complesse fitato/metallo sono state determinate per via potenziometrica a  $I = 0.15 \text{ mol L}^{-1}$  in NaCl (sale presente in maggiore quantità nei fluidi naturali). A causa della formazione di specie poco solubili, le misure sono state condotte in forte eccesso di legante, favorendo la formazione solo di specie mononucleari. Dall'analisi dei dati sperimentali è emersa la formazione di sei specie complesse uguali per tutti i lantanidi ( $\text{M}^{3+}$ ) presi in considerazione ovvero  $\text{MPhyH}_i^{i-9}$  (con  $0 \leq i \leq 5$ ) con eccezione per il  $\text{La}^{3+}$  che presenta anche una specie complessa esaprotonica ( $\text{LaPhyH}_6^{3-}$ ). È stato determinato il potere sequestrante dell'acido fitico per ogni metallo mediante il parametro  $\text{pL}_{50}$ , che rappresenta la quantità di legante necessaria a sequestrare il 50% del metallo presente in soluzione. Sono state formulate delle equazioni predittive per il calcolo della stabilità di specie contenenti fitato ed altri lantanidi. Inoltre, per il lantanio sono stati calcolati, da dati calorimetrici, i parametri  $\Delta H$  e  $T\Delta S$  per gli equilibri di complessazione.

1. F. Crea, C. De Stefano, D. Milea, S. Sammartano *Coord. Chem. Rev.* **2008**, 252, 1108–1120, e riferimenti interni.

## Capacità sequestranti di differenti classi di leganti nei confronti del Dimetilstagno(IV)

A. Casale, F. Crea, C. De Stefano, G. Manfredi, D. Milea, S. Sammartano

Università degli studi di Messina, Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica, Salita Sperone, 31 Villaggio S.Agata – Messina; *email gmanfredi@unime.it*

È stato dimostrato che l'attività biologica e chimica di diversi elementi, di composti organici ed inorganici è da attribuirsi solo ad alcune forme chimiche in cui le sostanze si trovano all'interno di un qualsiasi ambiente naturale. Per comprendere al meglio il loro meccanismo d'azione è necessario conoscere la concentrazione analitica e la loro speciazione: questo termine indica la distribuzione delle forme chimiche nelle quali un componente è presente in un determinato sistema. Tale studio consente di determinare la distribuzione delle specie complesse in funzione di diverse variabili come il pH, la forza ionica e il mezzo ionico della soluzione, e fornire, così, un importante contributo allo studio della tossicità del catione metallico in esame. In questo lavoro l'interesse è stato focalizzato su un sistema ancora relativamente poco conosciuto come quello Dimetilstagno(IV) (DMT) in presenza di leganti poliamminici e amminoacidici. I leganti utilizzati sono stati: etilendiammina, 1,4-diamminobutano (putrescina), N,N'-bis(3-amminopropil)butil-1,4-diammina (spermina), poliallilammina, polietilenimmina, glicina ed acido L-aspartico. Il dimetilstagno(IV) fa parte della vasta classe dei composti organostagno(IV), con formula generale  $R_nSnX_{(4-n)}$ ; la loro elevata tossicità e l'ampio spettro di applicazioni (antiparassitari, antifouling, stabilizzanti per PVC) porta ad una notevole diffusione nell'ambiente di tali sostanze.

Lo sviluppo dello studio sui sistemi Dimetilstagno(IV)/leganti poliamminici e amminoacidici è stato effettuato tramite misure potenziometriche in NaCl a differente forza ionica ( $0.1 \leq I \leq 1 \text{ mol L}^{-1}$ ). I risultati ottenuti hanno evidenziato la formazione di complessi tra il dimetilstagno(IV) e le poliammine (o amminoacidi) del tipo  $MLH_{i-1}$  ( $0 \leq i \leq 4$ , in base al numero di gruppi funzionali del legante). In quasi tutti i sistemi, la formazione della specie idrolitica  $(DMT)(OH)_2^0$ , molto stabile, abbassa notevolmente la disponibilità del DMT alla complessazione: per i leganti diamminici la percentuale raggiunta dai complessi formati con il dimetilstagno non supera il 60%, mentre nel caso della spermina e della polietilenimmina (leganti tetramminici) si raggiungono percentuali anche superiori all'80%. Tale comportamento è stato riscontrato in altri lavori riguardanti la formazione di complessi tra dimetilstagno(IV) e leganti policarbossilici [1].

La capacità sequestrante dei leganti poliamminici e amminoacidici è stata determinata in presenza di tracce di dimetilstagno(IV); questo dato è stato ottenuto calcolando il  $pL_{50}$ , che rappresenta la concentrazione di legante necessaria a sequestrare il 50% del metallo presente in soluzione. I risultati hanno evidenziato una discreta capacità sequestrante dei diversi leganti nei confronti del DMT, e in particolar modo la spermina e la polietilenimmina hanno una capacità sequestrante dell'ordine di  $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Il valore di  $pL_{50}$  tende a raggiungere un massimo per poi diminuire notevolmente all'aumentare del pH (per l'etilendiammina si passa da un valore di 2.3 a pH 4 a 0.84 a pH 8.1).

1. De Robertis, A. Gianguzza, O. Giuffrè, A. Pettinano, S. Sammartano *Appl. Organometal. Chem.* **2006**; *20*: 89-98

EQ\_P111

## Interazione tra benzene-1,2,3,4,5,6-esacarbossilato e poliammine protonate

G. Bruno, A. De Robertis, O. Giuffrè, S. Sammartano

Università di Messina, Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica, Salita Sperone 31, I-98166 Messina (Vill. S. Agata); e-mail: ogiuffre@unime.it.

Tra i policarbossilati, la sottoclasse dei benzene-policarbossilati mostra interessanti caratteristiche: a. elevata carica negativa a  $\text{pH} > 6$ ; b. alta densità di carica; c. presenza nei fluidi naturali come prodotti di degradazione della materia organica (acidi fulvici)<sup>1</sup>; d. possibilità di formazione di molte specie con cationi inorganici ed organici, incluse le polinucleari.<sup>2</sup> Il composto più rappresentativo di questa sottoclasse di leganti è il benzene-1,2,3,4,5,6-esacarbossilato o mellitato (*mlt*), le cui interazioni con il protone e con vari cationi sono state studiate sia dal nostro che da altri gruppi di ricerca. Le interazioni mellitato-dietilentriammina (*dien*) e mellitato-spermidina (*spd*) sono state studiate mediante potenziometria e calorimetria di titolazione in soluzione acquosa a  $t = 25^\circ\text{C}$ . Sono stati determinati i parametri termodinamici di diverse specie  $A_pLH_q$  con  $p = 1$ ,  $q = 2 \dots 5$ , per entrambi i sistemi ed inoltre delle specie (*dien*)<sub>2</sub>LH<sub>4</sub> e (*sper*)LH<sub>6</sub>. Per queste specie sono state ottenute stabilità elevate ed entalpie di formazione esotermiche. È risultata una netta dipendenza dei parametri termodinamici dalle cariche coinvolte nella reazione di formazione, ben descritta da equazioni di tipo lineare. I profili di speciazione mostrano che le percentuali di formazione sono alte in un ampio intervallo di pH, in particolare per le specie mononucleari. Le percentuali delle specie contenenti spermidina sono risultate più elevate rispetto a quelle della dietilentriammina ed inoltre la specie (*spd*)LH<sub>3</sub> è assolutamente predominante in un ampio range di pH ( $\text{pH} = 6-9$ ).

È stata analizzata la capacità sequestrante del mellitato verso le poliammine considerando anche la dipendenza dalla forza ionica, dalla temperatura e dal pH.

Mediante analisi diffrattometrica è stata determinata la struttura della specie (*dien*)(*mlt*)H<sub>6</sub>·4H<sub>2</sub>O.

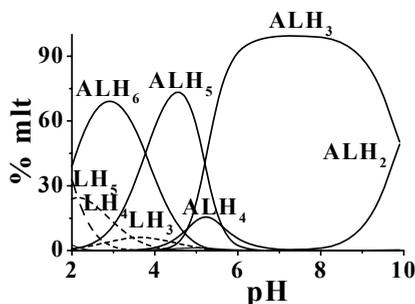


Diagramma di speciazione *spd* (A)-*mlt* (L) vs. pH at  $C_A = C_L = 1 \text{ mmol L}^{-1}$ ,  $I = 0 \text{ mol L}^{-1}$  e  $t = 25^\circ\text{C}$ . Le specie protonate del legante sono rappresentate da linee tratteggiate.

1. M. Schnitzer in: Soil Organic Matter, M. Schnitzer e S.U. Khan (Eds.), Cap. 1, Elsevier, Amsterdam, 1978.
2. De Robertis, C. De Stefano, C. Foti, O. Giuffrè, S. Sammartano *J. Chem. Res.*, (S) 60-61 (1996).

## Analisi critica dei parametri termodinamici del sistema acido fitico/Cadmio(II) determinati con differenti tecniche elettrochimiche

C. De Stefano, \* G. Lando, \* D. Milea, \* A. Pettignano<sup>†</sup>, S. Sammartano \*

\*Università degli studi di Messina, Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica, via Salita Sperone, 31 Villaggio S.Agata, – Messina; glando@unime.it

<sup>†</sup> Università degli studi di Palermo, Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica “Stanislao Cannizzaro”, Viale delle Scienze - Palermo

L'acido fitico è uno dei componenti della materia organica naturale, e grazie alla sua elevata carica, determinata dalla presenza all'interno della catena di sei gruppi fosfato, anche un forte sequestrante per ioni metallici. In questo lavoro l'interesse è stato focalizzato su un sistema poco conosciuto come quello acido Fitico(*Phy*)/Cadmio(II) utilizzando  $\text{NaNO}_3$   $0.1 \text{ mol L}^{-1}$  come mezzo ionico. Uno dei principali scopi di questo lavoro è quello di confrontare dati potenziometrici precedentemente ottenuti con l'elettrodo ISE- $\text{H}^+$ , con lo studio voltammetrico e lo studio potenziometrico mediante ISE- $\text{Cd}^{2+}$ .

È stato svolto uno studio preliminare tramite voltammetria ciclica al fine di determinare le caratteristiche di reversibilità del sistema e la velocità ottimale di scansione. Quindi è stata utilizzata la DP-ASV (Differential Pulse-Anodic Stripping Voltammetry) come tecnica analitica. L'interpretazione del dato analitico è stata effettuata tramite l'equazione di Lingane modificata, in termini di spostamento del potenziale di picco in funzione della concentrazione del legante. I dati sono stati confrontati anche con quelli ottenuti mediante misure potenziometriche con l'ISE- $\text{Cd}^{2+}$ . Quest'ultima tecnica ha confermato i risultati ottenuti con ISE- $\text{H}^+$ , per le specie complesse  $\text{CdPhyH}_5^{5-}$  e  $\text{CdPhyH}_6^{4-}$ . Anche i risultati voltammetrici hanno dato la stessa risposta per le sei costanti di formazione determinate,  $\text{CdPhyH}_i^{(12-2-i)-}$ , per  $1 < i < 6$ . Tra i risultati presentati in questo lavoro e i valori ottenuti tramite ISE- $\text{H}^+$  l'accordo è soddisfacente, la differenza tra i valori delle costanti, infatti, non è in nessun caso maggiore di 0.5 unità logaritmiche, dimostrando la riproducibilità dei dati. L'incertezza sui valori delle costanti è dello stesso ordine di grandezza e coincidente entro il 95% dell'intervallo di confidenza. Inoltre è stata determinata la capacità sequestrante del legante fitato in presenza di tracce di Cd(II). Questo dato è stato ottenuto calcolando il  $\text{pL}_{50}$  che rappresenta la concentrazione di legante necessaria a sequestrare il 50% del metallo presente in soluzione ed è molto utile nelle applicazioni ambientali. A conclusione del presente lavoro è possibile confermare la sinergia esistente tra la potenziometria e la voltammetria nella valutazione di un sistema complesso come quello in esame, potendo formulare un modello di speciazione completo, che comprenda specie complesse polinucleari, determinabili in potenziometria, e specie complesse presenti a basse concentrazioni determinabili per via voltammetrica.

1. F. Crea, C. De Stefano, D. Milea and S. Sammartano *Coord. Chem. Rev.*, **2008**, 252, 1108-1120.
2. C. De Stefano, D. Milea, N. Porcino, and S. Sammartano *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2006**, 386(2), 346-356.

# Complex species formation of Cu and Cd metal ions with polyacrylate, polymethacrylate and alginate ligands. Potentiometric investigation by ISE H<sup>+</sup> and ISE-Me<sup>2+</sup> electrodes

*A. Gianguzza<sup>\*</sup>, A. Pettignano<sup>\*</sup>, S. Sammartano<sup>†</sup>, S. Sciarrino<sup>\*</sup>*

<sup>\*</sup>Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica "Stanislao Cannizzaro". Università di Palermo, Viale delle Scienze, I-90128, Palermo, Italy (s\_sciarrino@hotmail.com)

<sup>†</sup>Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica. Università di Messina, Salita Sperone 31, I-98166, Messina (Vill. S. Agata), Italy

Metal complexation by polycarboxylic ligands has been widely investigated in the light of using it in different technical applications such as water and wastewater treatment, heavy metal removal in contaminated sites, metal recovery, etc. In particular, polyacrylates and polymethacrylates are used as flocculant in drinking water production, as scale inhibitor, as dispersant in papermaking and as basic ingredients in the ion-exchange polymer systems for metal ions sequestration. Many data are reported in the literature on the interaction of polyacrylates and polymethacrylates with divalent metal ions (like Ni<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>), lanthanide ions and organometallic cations (CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup>). Most of data are reported at one value of ionic strength, generally at 0.1 mol L<sup>-1</sup> and are, for this reason, scarcely useful for studies of metal complexation in environmental aquatic systems where ionic strength is extremely variable. In this work we report results of an investigation on the complexation of Cu(II) and Cd(II) ions with polyacrylates (PAA 2 kDa, 100 kDa) and polymethacrylate (PMA 5.4 kDa) at different molecular weights and at ionic strength values from 0.1 to 0.75 mol L<sup>-1</sup> (NaNO<sub>3</sub> medium). Results are compared with those obtained in investigating the interaction of Cd(II) and Cu(II) with the alginate (AA) in the light to obtain a trend of sequestering capacity of synthetic and naturally occurring polycarboxylate ligands towards metal ions. All results are given in terms of stability constants. Protonation constants of polyelectrolyte ligands were always considered in the calculations. The species Me(L) were found for all polyelectrolytes investigated and, in addition, the species Me(HL) for PAA 100 kDa and PMA ligands. Measurements were carried out by ISE-H<sup>+</sup> and ISE-Me<sup>2+</sup> (at fixed pH = 5.2 for ISE-Me) potentiometric technique, and results obtained show an excellent accordance. Data obtained at different ionic strengths allowed us to evaluate the dependence of formation constants on ionic strength and to calculate the formation constants at infinite dilution (I → 0 mol L<sup>-1</sup>). From the stability data of the metal complex species formed the following trend of sequestering capacity for both metal ions investigated was found: PAA(100KDa) > PMA(5.4KDa) > PAA(2KDa) > AA

## Comportamento di sali sodici degli acidi biliari con lo ione calcio

*M. Antonilli, E. Bottari, M.R. Festa, L. Gentile*

Dipartimento di Chimica, S. Cannizzaro, Università “La Sapienza”,  
P.le A. Moro 5, 00185 Roma

L'influenza della presenza dello ione calcio (II) su soluzioni contenenti ioni sodio e taurocolato è stata studiata a 25°C e in 0,5 mol dm<sup>-3</sup> N(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Cl come mezzo ionico costante. La composizione e l'intervallo di esistenza degli aggregati formati da taurocolato e calcio (II) sono stati investigati per mezzo di due procedimenti differenti. Per primo è stato studiato l'incremento di solubilità dell'ossalato di calcio (II) attribuibile alla presenza di ioni taurocolato proprio in funzione delle concentrazioni di taurocolato, sodio e ione idrogeno. Veniva misurata mediante misure di forza elettromotrice (f.e.m.) la concentrazione libera degli ioni sodio ed idrogeno (usando appositi elettrodi di vetro) in soluzioni equilibrate con ossalato di calcio (II) solido, preparato ed analizzato in laboratorio. Dopo filtrazione, la concentrazione di calcio (II) nel filtrato era determinata mediante spettrofotometria per assorbimento atomico. La concentrazione totale dell'ossalato veniva determinata invece per via volumetrica titolando con KMnO<sub>4</sub> standard. Nel secondo procedimento le misure di f.e.m. condotte in soluzioni contenenti taurocolato, sodio e calcio ioni, erano atte a fornire le concentrazioni libere di ioni sodio ed idrogeno. I risultati di entrambi i procedimenti possono essere spiegati assumendo la presenza di aggregati di differente composizione con la partecipazione di sodio, calcio (II) e ioni taurocolato in dipendenza della concentrazione dei reagenti. Non si formano in apprezzabile quantità aggregati con la partecipazione dello ione idrogeno. I dati sono stati affinati per approssimazioni successive per via grafica e sono stati introdotti in un programma di calcolo (BSTAC)<sup>1</sup> adatto per l'elaborazione di dati di questo tipo. Sono stati ottenuti i risultati riportati nella Tabella.

**Tabella.** Valori delle costanti  $\log \beta_{q,w,0,r}$  delle specie  $\text{Na}_w \text{Ca}_q \text{H}_0 (\text{TC})_r$ , a 25°C e in 0.5 mol dm<sup>-3</sup> N(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>Cl, che spiegano i dati sperimentali ottenuti applicando differenti procedimenti.

Specie proposta	Solubilità	Misura f.e.m.	BSTAC	Valore proposto
$\text{Na}_w \text{Ca}_q \text{H}_0 (\text{TC})_r$	$\log \beta_{q,w,0,r}$	$\log \beta_{q,w,0,r}$	$\log \beta_{q,w,0,r}$	$\log \beta_{q,w,0,r}$
Ca (TC) <sub>2</sub>	2,50 ± 0,1	2,50 ± 0,1	2,50 ± 0,1	2,50 ± 0,10
Na Ca (TC) <sub>4</sub>	10,0 ± 0,12	10,0 ± 0,12	10,0 ± 0,12	10,0 ± 0,12
Na Ca <sub>2</sub> (TC) <sub>6</sub>	16,0 ± 0,22	16,0 ± 0,25	16,00 ± 0,20	16,0 ± 0,3
Na <sub>3</sub> Ca <sub>2</sub> (TC) <sub>8</sub>	24,4 ± 0,25	24,5 ± 0,25	24,45 ± 0,25	24,45 ± 0,25
Na <sub>5</sub> Ca <sub>3</sub> (TC) <sub>16</sub>	49,00 ± 0,25	48,90 ± 0,25	49,10 ± 0,20	49,10 ± 0,35.

Tutte le specie proposte hanno numero di aggregazione pari in taurocolato. Il numero di aggregazione di TC non raggiunge alti valori, ma un confronto con i risultati ottenuti per il sistema sodio taurocolato senza ioni calcio (II), nelle stesse condizioni sperimentali mostra che in presenza di calcio, si forma un aggregato con numero massimo di aggregazione maggiore del caso di NaTC cioè, 16 invece di 8. Dai risultati ottenuti e dalle specie di cui si assume la presenza, si può osservare una stretta analogia con la composizione del glicocolato, mentre forti differenze si notano con i di idrossicolanici, come il desossicolato ed i suoi coniugati.

1. C. De Stefano, P.Mineo, C. Rigano and S. Sammartano, Ann. Chim. (Roma), **83**, 243 (1993).

EQ\_P115

## Arginina come legante di cationi

M. Antonilli, E. Bottari, M.R. Festa, L. Gentile

Dipartimento di Chimica, S. Cannizzaro, Università "La Sapienza", P.le A. Moro 5,  
00185 Roma

La composizione di soluzioni contenenti arginina e calcio (II) e magnesio (II), rispettivamente, è stata studiata a 25°C ed in due differenti mezzi ionici, 1,00 mol dm<sup>-3</sup> NaCl oppure 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub>. La formazione di complessi in 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaCl era studiata misurando la forza elettromotrice (f.e.m.) di una cella galvanica comprendente un elettrodo di vetro che era in grado di fornire la concentrazione libera dello ione idrogeno. Lo studio in 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub> era condotto misurando la f.e.m. di due celle galvaniche. Una comprendeva un elettrodo di vetro, l'altra un elettrodo ad argento. Lo studio era condotto in un ampio campo di concentrazione dei reagenti, ma applicando il metodo del mezzo ionico costante le variazioni dei coefficienti di attività venivano minimizzate e le concentrazioni potevano sostituire le attività in tutte le espressioni di calcolo. Dai dati primari potevano essere calcolate le rispettive funzioni di formazione e, considerando l'intervallo di concentrazione idrogenionica e le costanti di protonazione del legante, si doveva ammettere che il legante esercitasse in tutti i casi le sue funzioni nella forma HL. I dati sperimentali ottenuti per lo ione calcio (II) potevano essere spiegati, sia in 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaCl come anche in 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub>, assumendo l'esistenza di complessi 1: 1 ed anche 1:2, naturalmente con costanti differenti. I dati sperimentali ottenuti invece per lo ione magnesio (II) potevano essere spiegati, sia in 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaCl come anche in 1.00 mol dm<sup>-3</sup> NaClO<sub>4</sub>, assumendo l'esistenza solo di complessi 1: 1 naturalmente con costanti differenti. Nella tabella sono riportati i complessi formati nei due mezzi ionici con le costanti di stabilità.

**Tabella.** Costanti di stabilità ( $\log \beta_{0,p,r}$ ) delle specie assunte per spiegare i dati sperimentali ottenuti a 25 °C ed in due mezzi ionici (1.00 mol dm<sup>-3</sup>) NaCl e NaClO<sub>4</sub> per calcio (II) e magnesio (II) con arginina.

Catione	Mezzo Ionico	$\log \beta_{1,1,1}$	$\log \beta_{1,2,2}$	Metodo	Valori Proposti
Calcio	NaCl	2.21±0.05	3.02±0.05	pH*	2.21±0.05
			3.02±0.05		
Calcio	NaClO <sub>4</sub>	2.32±0.05	3.24±0.05	pAg**	2.31±0.05
			3.24±0.05		
Calcio	NaClO <sub>4</sub>	2.30±0.05	3.25±0.05	pH	2.31±0.05
			3.24±0.05		
Magnesio	NaClO <sub>4</sub>	2.00±0.02	---	pAg	2.00±0.02
Magnesio	NaClO <sub>4</sub>	1.99±0.03	---	pH	2.00±0.03
Magnesio	NaCl	1.85±0.03	---	pH	1.85±0.03

\*pH indica misure con G E \*\*pAg indica misure con Ag E.

Dal valore delle costanti si può dedurre che i complessi formati dal calcio (II) sono in ogni caso più stabili rispetto a quelli formati dal magnesio (II) ed i valori delle costanti in mezzo ionico NaCl sono inferiori a quelli trovati in NaClO<sub>4</sub>.

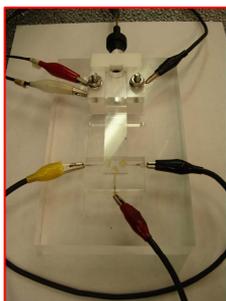
L'unico dato di letteratura con cui si può confrontare la tabella è un lavoro di Clarke e Martell, "Metal chelates of arginine and related ligands". *J. inorg. nucl. Chem.*, **32**, 911-926 (1970). I dati di quest'ultimo sono però ottenuti condizioni sperimentali diverse (KNO<sub>3</sub> 0,1 mol dm<sup>-3</sup>) in un intervallo molto ristretto di concentrazione per cui viene trovato solo CaHL e non il complesso 1:2.

## Determinazione rapida di aldeidi leggere in alimenti mediante elettroforesi capillare su microchip con rivelazione amperometrica

*N. Dossi, S. Susmel, R. Toniolo, A. Pizzariello, G. Bontempelli*

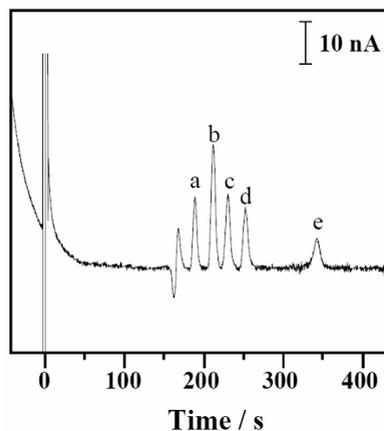
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche Università di Udine  
via Cotonificio 108, I-33100 Udine

Lo scopo di questa indagine è stato lo sviluppo di un approccio separativo basato sull'uso dell'elettroforesi capillare, realizzata su microchip con rivelazione amperometrica, per la determinazione quantitativa simultanea di aldeidi alifatiche a corta catena (acetaldeide, propionaldeide, butiraldeide ed esaldeide), dopo derivatizzazione con 2,4-dinitrofenildrazina (DNPH). Le analisi sono state condotte utilizzando un supporto microfluidico in vetro dotato di due canali posti perpendicolarmente tra loro, uno per l'iniezione e l'altro per la separazione, come mostrato in Figura 1. Il microchip era equipaggiato con un rivelatore amperometrico posto al



termine del canale di separazione (configurazione end-channel), costituito da un elettrodo di riferimento (filamento di Ag/AgCl), un controelettrodo di Pt ed un elettrodo di grafite vetrosa come lavorante. Le condizioni ottimali per la procedura di separazione sono state preliminarmente individuate utilizzando miscele sintetiche degli idrazo-derivati delle rispettive aldeidi alle diverse concentrazioni. La separazione veniva effettuata utilizzando un tampone borato 15 mM, contenente sodio dodecilsolfato (SDS) 25 mM, miscelato con acetonitrile al 35 % v/v ed applicando una differenza di potenziale di 2250 V sia durante la fase di iniezione (3s) che durante la fase di separazione. Tali condizioni operative hanno permesso di separare gli

analiti considerati in tempi rapidi (ca. 350 s), applicando un potenziale catodico di rivelazione -1.0 V (vs. Ag/AgCl) all'elettrodo di grafite vetrosa, come mostrato in Figura 2. I risultati ottenuti si sono dimostrati soddisfacenti sia in termini di ripetibilità (RSD=1.6-3.8 %) che di sensibilità, con limiti di rivelabilità di 4,5, 4,5, 6,6, 6,8, 13.1  $\mu\text{M}$  per DNPH (a), acetaldeide-DNPH (b), propionaldeide-DNPH (c), butiraldeide-DNPH (d) ed esaldeide-DNPH (e), rispettivamente. La metodica separativa è stata successivamente applicata a campioni di oli vegetali arricchiti con quantità variabili delle diverse aldeidi, i quali venivano sottoposti ad una procedura di derivatizzazione appositamente messa a punto. Tali prove hanno permesso di stabilire che la metodica è caratterizzata da un soddisfacente recupero ( $70 \pm 1.8$  %) che non varia al variare della concentrazione aldeidica.



## **Voltammetric determination of platinum in leaves of *Nerium Oleander L.*; Preliminary data on assessment of air quality in the Palermo (Italy) area**

*D. Amorello, O. Coniglio, S. Orecchio, V. Romano*

Dipartimento di Chimica Inorganica e Analitica "S. Cannizzaro", Università di Palermo, Parco d'Orleans 2, 90128 Palermo, Italy - e-mail: orecchio@unipa.it

Road traffic has an important impact on the air quality which affects both the environmental and human health. The incomplete combustion of fossil fuel inside the vehicle engine causes the emission of unburned hydrocarbons, carbon monoxide, nitrogen oxides (NO<sub>x</sub>), sulphur oxides (SO<sub>x</sub>), particulates and other compounds in the environment. As a consequence, legislation was introduced in order to limit the emission of these undesirable compounds caused by road traffic and, in order to respect the current limits of emissions and those proposed for the next few years, catalytic converter technology has proven to be the most active system for the control of vehicle emissions. The reactions are catalyzed by transition metal oxides and noble metals like Pt, Pd and/or Rh (platinum group elements, PGE). Nowadays it is fully accepted that automotive catalytic converters represent the major source of emission of PGE into the environment. Since the introduction of PGE-containing catalytic converters, a number of studies have been undertaken to determine the effects of Pt emissions on human and to environment. This requires the development of good analytical methods to measure Pt concentrations in environmental and biological matrices, as well as to estimate background concentrations. A direct determination of Pt using ICP-MS, for instance, is problematic, due to interfering signals and problems related to isolating this metal from the matrix. In this research we use voltammetric technique to measure the concentrations of Pt in *Nerium oleander* leaves. Increase of the sensitivity and selectivity of ASV (Anodic Stripping Voltammetry) was achieved by the modification of an enhanced adsorption of reactants. Ligands containing oxime groups were used for the adsorptive accumulation of Pt on Hg electrode. There are a number of analytical tools, to evaluate concentration of Pt in atmosphere. These, however, require the use of more or less automated instruments. The advantages of use of sea fruit, plant and/or part of it (bark, leaves, fruit, etc.) are reported [1-4] in order to compare the relative air quality in different sites where plants and animals are sampled. PGE compounds are removed from the atmosphere and deposited on water, soil and plant foliage. These contaminants are essentially unavailable for uptake by plant roots. PGE detected in above-ground plant tissues are derived from the atmosphere. Deposition of pollutants on the plant foliage is a function of air concentrations. So leaves represent a convenient passive sampler for collecting atmospheric Pt. The leaves of *Nerium oleander L.*, an evergreen oak, have been chosen, for our investigation, because the characteristics of this species are well known, and they are used in other studies to evaluate heavy metals and PAHs [5] in the environment. In particular, this plant was chosen because, like other arbor, shrub and herbaceous examples, it is widespread in the Mediterranean area and it is commonly found both in the metropolitan and in the peripheral areas. The purpose of this research was to optimize analytical method for biological matrices, investigate the degree of contamination in the urban area of Palermo by comparing Pt concentration in leaves of oleander from the several sites and establish distribution patterns. Preliminary data on the presence of Pt in airborne particulate matter from the urban area of Palermo (Sicily, Italy) are presented. They were obtained by analyzing 20 samples of *Nerium oleander L.* collected in and around the city and mineralized using HCl + HNO<sub>3</sub> (3:1) in microwave oven. Quantification limit (LOD) of the global proposed method is about 6 µg/Kg d.w. Observed concentrations range from 25 to 160 µg/kg d.w. for Pt.

## **Sviluppo e ottimizzazione di una nuova metodica per l'analisi di platino in presenza di stagno mediante voltammetria di stripping anodico**

*B. Giussani, S. Roncoroni, S. Recchia, C. Dossi*

Dipartimento di Scienze Chimiche e Ambientali, Università degli Studi dell'Insubria,  
via Valleggio 11, 22100 Como

Con questo contributo si vuole presentare una nuova metodica analitica per la determinazione indiretta di platino in presenza di stagno.

L'idea della ricerca nasce dal fatto che l'analisi dello stagno mediante voltammetria ad impulso differenziale (DPV) mostra un'interferenza quando nella cella è presente platino in ambiente acido (HCl). La letteratura [1] attribuisce questa interferenza alla formazione di composti intermetallici che impediscono la riduzione dello stagno all'elettrodo di mercurio.

Si è quindi pensato di sfruttare questa interferenza per la determinazione indiretta del platino, elemento di grande interesse perché considerato *marker* del moderno inquinamento. La tecnica di voltammetria di stripping anodico è stata scelta in quanto più sensibile e in grado, quindi, di raggiungere limiti di rivelabilità più bassi.

Le determinazioni analitiche sono state condotte in cella di teflon. L'ottimizzazione dei parametri sperimentali (forma del segnale voltammetrico, degasaggio, tempo e potenziale di deposizione, equilibration time, acidità della soluzione) è stata portata a termine mediante progettazione di esperimenti (experimental design - DoE).

Sono stati valutati il limite di linearità e il limite di rivelabilità della metodica. Per la validazione, sono stati analizzati campioni di catalizzatore contenenti platino. I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli ottenuti mediante analisi di assorbimento atomico con fornetto di grafite (GFAAS) e spettrometria di massa con sorgente al plasma (ICP-MS). I risultati ottenuti dalle tre tecniche analitiche non sono risultati significativamente differenti (livello di confidenza del 95%). Nel poster verranno mostrati i risultati e le *figures of merit* della metodica.

1. D. Monticelli, R. Psaro, A. Pozzi, C. Dossi, S. Recchia, *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, 383, 115-121

EA\_P119

## Determinazione di mercurio e metalli pesanti in specie acquatiche

*D. Melucci, M. Alessandri, C. Locatelli*

Dipartimento di Chimica, Università di Bologna, Via F. Selmi 2 I-40126 BOLOGNA  
clinio.locatelli@unibo.it

L'accumulo di sostanze tossiche nell'ambiente è in continuo aumento a causa delle attività antropiche. A questo riguardo, uno dei maggiori problemi è legato al contenuto di metalli pesanti nelle acque di scarico industriali e domestiche che evidentemente creano inquinamento agli ecosistemi acquatici.

Gli effetti dei metalli pesanti sulla vita marina sono veramente complessi. Infatti tali elementi tendono a concentrarsi in tutte le matrici acquatiche ambientali: sedimenti ed organismi animali e vegetali, e per tale ragione essi sono presenti nella catena alimentare acquatica, diventando pericolosi anche per l'uomo, come conseguenza del consumo alimentare di prodotti marini. In particolare gli organismi filtratori (mitili e vongole ed altri), ma anche i pesci, tendono ad accumulare i diversi metalli dall'ecosistema acquatico in cui essi vivono.

Per tale ragione è assolutamente necessario mettere a punto metodiche analitiche affidabili atte a determinare tali elementi con buona accuratezza.

In questa ottica, il presente lavoro propone procedure per la determinazione di metalli pesanti in matrici acquatiche quali alghe ed organismi filtratori, ed in particolare:

- a. la simultanea determinazione di Hg e Cu su elettrodo d'oro mediante voltammetria differenziale pulsata accoppiata alla tecnica della ridissoluzione anodica (DPASV).
- b. la simultanea determinazione di Cu, Pb, Cd, Zn su elettrodo di Hg mediante voltammetria differenziale pulsata accoppiata alla tecnica della ridissoluzione anodica (DPASV).

Le procedure analitiche, verificate su materiali standard di riferimento, hanno mostrato avere buona esattezza e precisione. In tutti i casi, sia la prima, espressa come deviazione standard relativa ( $s_r$ ), che la seconda, espressa come errore relativo ( $e$ ), erano dell'ordine del 3-5%.

Le procedure analitiche, una volta messe a punto, sono state applicate e trasferite a campioni di *Mytilus Galloprovincialis*, *Tapes Philippinarum* e *Ulva Rigida*, *Gracilaria Rhodophita*, specie molto comuni nel mare Adriatico

## Elettrodi stampati modificati con nanoparticelle d'oro per la determinazione di Hg (II)

*S. De Vettori*<sup>\*</sup>, *G. Capodaglio*<sup>†</sup>, *P. Cescon*<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>Istituto per la Dinamica dei Processi Ambientali – CNR, Calle Larga Santa Marta 2137, 30123 Venezia - [devettori@unive.it](mailto:devettori@unive.it) ; [cescon@unive.it](mailto:cescon@unive.it)

<sup>†</sup>Dipartimento di Scienze Ambientali, Università Ca' Foscari, Calle Larga Santa Marta 2137, 30123 Venezia - [capoda@unive.it](mailto:capoda@unive.it)

L'impiego di nanoparticelle metalliche per la modifica di superfici elettrodiche ha avuto in questi ultimi anni un notevole impulso anche grazie ai recenti sviluppi delle nanotecnologie. Numerosi studi si sono occupati delle tecniche di formazione e dell'impiego di nanoparticelle nello sviluppo di sensori per la determinazione di diverse specie elettroattive (1). Sensori modificati con nanoparticelle d'oro sono stati impiegati nella determinazione di As(III) (2), Cr(VI) (3) e Sb(III) (4) ottenendo un notevole miglioramento dei limiti di rilevabilità. In questo studio sono stati modificati elettrodi stampati (elettrodo di lavoro e controlettrodo in grafite, pseudo riferimento in Ag/AgCl) per mezzo di nanoparticelle d'oro e impiegati per la determinazione di Hg(II) tramite ASV. Le nanoparticelle sono state elettrodepositate via step di potenziale da una soluzione di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0.5M contenente HAuCl<sub>4</sub> 0.1 mM. Lo scopo del lavoro è quello di combinare le potenzialità elettroanalitiche offerte dalle nanoparticelle con i vantaggi dei sensori stampati (basso costo e possibilità di essere adattati a sistemi portatili per analisi in campo). Si presentano i risultati dell'ottimizzazione sia della tecnica di elettrodeposizione delle nanoparticelle, sia dei parametri della tecnica voltammetrica impiegata unitamente al limite di rilevabilità ottenuto.

1. C. M. Welch, R. G. Compton *Anal. Bioanal Chem.* **2006**, *384*, 601-619.
2. X. Dai, O. Nekrasova, M. E. Hyde, R. G. Compton *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 5924-5929.
3. G.Liu, Y-Y. Lin, H. Wu, Y Lin *Environ. Sci. Technol.* **2007**, *41*, 8129-8134.
4. O. Domínguez Renedo, M.J. Arcos Martínez *Anal. Chim. Acta* **2007**, *589*, 255-260.





## INDICE AUTORI

### A

Ääritalo T.	OSE-EA_5	95
Abate S.	OTC_3	25
	TS_P7	111
	TS_P10	114
Abbadessa G.	OTS_4	60
Abballe F.	OPR-BA_2	45
Abdi F.	OPR-BA_7	50
Abete C.	OAM_8	86
Abollino O.	OAM_6	84
Aceto M.	OAL_2	12
	OAL_5	15
	OBC-SA_2	36
Adami G.	AM_P84	188
	AM_P85	189
Adamiano A.	AM_P88	192
Addari D.	OBC-SA_4	38
Adinolfi Falcone R.	AM_P86	190
Agas D.	PR_P69	173
Agostino A.	OBC-SA_2	36
Aiello D.	PR_P67	171
	PR_P68	172
	PR_P69	173
Alberti G.	OAL_11	21
	OBC-SA_6	40
	OEQ_2	67
	EQ_P105	209
	EQ_P108	212
Alessandri M.	CH_P51	155
	CH_P52	156
	EA_P119	223
Ambrosi A.	AL_P36	140
Amendola L.	AM_P99	203
Amico F.	OSE-EA_1	91
Amine A.	OSE-EA_4	94
	SE_P58	162
	SE_P59	163
Amorello D.	EA_P117	221
Amoresano A.	OPR-BA_4	47
	OPR-BA_10	53
	OTC_1	23
Angelico R.	OTC_1	23
Angelini I.	OCH_1	75
Annibaldi A.	OSE-EA_12	102
Antonilli M.	EQ_P114	218
	EQ_P115	219
Apostoli P.	AM_P84	188
Arduini F.	OSE-EA_4	94
	SE_P58	162
	SE_P59	163
	SE_P60	164
Aresta A.	OPR-BA_8	51
Arra R.	OSE-EA_6	96

Artioli G.	OCH_1	75
Asti M.	OAM_5	83
Atzei D.	SA_P1	105
	OBC-SA_4	38

### B

Bafile E.	TS_P14	118
	OAL_2	12
	OAL_5	15
Baldizzone M.	OSE-EA_10	100
Baldo M. A.	CH_P47	151
Bandino G.	TC_P19	123
Barbante C.	OAM_5	83
	OAM_7	85
Barbante F.	BA_P80	184
Barbieri P.	AM_P84	188
Barca D.	BC_P27	131
Barone R.	OPR-BA_5	
	TC_P18	122
Bartoletti D.	TC_P20	124
	OSE-EA_12	102
Bassotti E.	OSE-EA_10	100
Battistel D.	OAM_9	87
Becagli S.	AM_P91	195
	AM_P92	196
	AM_P96	200
	PL2	2
Becker J. Sa.	PL2	2
Becker J. Su.	OTC_12	34
	PL2	2
Bello C.	OTS_6	62
Benincasa C.	TC_P18	122
	TC_P19	123
	TC_P20	124
Benzi M.	AM_P101	205
Bergna M.	OTS_3	59
Berto S.	OEQ_1	66
	AM_P83	187
Betti P.	OTS_5	61
Bettocchi C.	OPR-BA_8	51
Bianchi F.	OTS_5	61
	TS_P15	119
Bianco G.	OTC_3	25
	OTC_5	27
	TS_P7	111
	TS_P10	114
Bianco V.	OBC-SA_2	36
Biesuz R.	OAL_11	21
	OBC-SA_6	40
	OEQ_2	67
	EQ_P105	209
Birolo L.	OPR-BA_11	54
Bisceglie F.	OTS_5	61
Bobbà M.	OTS_2	58
	OCH_3	77
	CH_P53	157
Bogani P.	OSE-EA_2	92



Chiaravalle A.E.	OAL_12	22	Coto-García A.M.	PR_P70	174
Chiari M.	AM_P94	198	Cotrone S.	SA_P2	106
	AM_P95	199	Cozzi F.	AM_P84	188
	AM_P96	200	Cozzi G.	OAM_5	83
Chiaromonte P.	BA_P74	178		OAM_7	85
	BA_P76	180	Crea F.	EQ_P107	211
Chidichimo G.	BC_P34	138		EQ_P109	213
Chirizzi D.	OBC-SA_8	42		EQ_P110	214
	SE_P56	160		OEQ_4	69
Chiti G.	TS_P5	109	Crea P.	EQ_P109	213
Ciavatta L.	OEQ_3	68	Creminini C.	OBC-SA_5	39
	OEQ_7	72	Crisci G. M.	BC_P27	131
Cichelli, A.	OAL_4	14	Croce F.	AM_P98	202
Cigala R. M.	OEQ_4	69	Crosera M.	AM_P85	189
Cimino R.	EQ_P106	210	Cucca L.	AM_P100	204
Cincinelli A.	OAL_6	16	Cucci F.	PR_P73	177
Cioffi N	SA_P2	106	Cugia F.	OSE-EA_6	96
	OTC_11	33	Consolo V.	OPR-BA_6	49
Ciriello R.	OSE-EA_3	93	Curini R.	TS_P14	118
	BA_P81	185	<b>D</b>		
Cloetens P.	BC_P29	133	D'Agostin F.	AM_P85	189
Cocchi M.	OAL_1	11	D'Agostino G.	OEQ_9	74
	AL_P38	142	D'Aguanno A.	BC_P31	135
	CH_P53	157	D'Archivio A.A.	OTS_1	57
Colaianni L.	OTC_11	33		CH_P48	152
Colombini M.P.	BC_P28	132		AM_P86	190
	BC_P29	133	D'Ascenzo G.	AL_P36	140
Colombo R.	PR_P71	175	D'Elia M.	CH_P51	155
Colonna L.	OAM_3	81	Dalcanale E.	OTS_5	61
Compagnone D.	OAL_4	14	Damascelli A.	AL_P42	146
	TS_P14	118	Daniele P. G.	OEQ_1	66
	SE_P62	166	Daniele S.	OSE-EA_10	100
	AM_P87	191		CH_P47	151
Company's E.	EQ_P108	212	De Bernardis C.	BA_P74	178
Compson K. R.	OPR-BA_13	56		BA_P76	180
Coniglio O.	EA_P117	221	De Boni A.	OAM_5	83
Contado C.	OTS_8	64	De Francesco A. M.	BC_P27	131
Conti C.	BC_P33	137	De Lorenzi E.	PR_P71	175
Corami Orabito E.	OSE-EA_7	97	De Luca G.	OTC_2	24
M.F.			De Luca M.	CH_P49	153
Corbelli G.	OTC_9	31		CH_P50	154
Corbo C.	OPR-BA_4	47	De Michele R.	PR_P65	169
Corradini C.	OTC_10	32	De Robertis A.	EQ_P111	215
	AL_P39	143	De Rose F.	TC_P19	123
Corradini D.	OTS_6	62		TC_P20	124
Corradini E.	PR_P72	176	De Rossi A.	OTS_6	62
Corti C.	BC_P33	137	De Rossi D.	SE_P64	168
Costa P.	AM_P98	202	De Stefano C.	EQ_P109	213
Costa R.	AL_P41	145		EQ_P110	214
Costa-Fernandez	PR_P70	174		EQ_P112	216
J.M.			De Tommaso G.	OEQ_3	68
Costanza C.	OBC-SA_4	38		OEQ_7	72
	BC_P31	135	De Vettori S.	EP_P120	224
	BC_P32	136	De Zio G.	OTC_1	23
Costanzo D.	SE_P64	168	Deagostini L.	OAL_5	15

Degano I.	BC_P28	132			TS_P3	107
Del Bubba M.	OAL_6	16			TS_P4	108
Del Carlo M.	OAL_4	14			TS_P8	112
	SE_P62	166			TS_P9	113
	AM_P87	191			TC_P23	127
Del Zotti O.	AL_P40	144			TC_P24	128
Dell'Oro D.	TC_P25	129			AL_P37	141
Della Ciana L.	TC_P21	125			AL_P41	145
Demartini M.	OCH_3	77		Dunn M.	OPR-BA_13	56
	CH_P53	157		Durante C.	OAL_1	11
Dhroso A.	SE_P54	158			AL_P38	142
Di Carlo S.	BC_P31	135		<b>E</b>		
Di Corcia D.	OAL_9	19		Elsener B	SA_P1	105
Di Donna L.	OTC_2	24			OBC-SA_6	40
	TC_P22	126		Elviri L.	OPR-BA_1	44
	PR_P68	172			BA_P75	179
Di Falco F.	SE_P62	166			PR_P65	169
Di Federico L.	TS_P16	120		Ermilov L	AM_P93	197
Di Francesco F.	SE_P64	168		<b>F</b>		
	BA_P79	183		Fabbri D.	OAM_3	81
Di Marcello M.	AM_P87	191			AM_P88	192
Di Martino M	OAM_6	84			OAM_2	80
Di Martino S.	OCH_3	77		Fabrizi G.	TS_P14	118
Di Pinti A.	OTC_8	30		Fagiani A.	AM_P86	190
Di Tuoro D.	SE_P60	164		Falvo M.	OEQ_5	70
Diamanti A.	OBC-SA_5	39		Famigliani G.	OTC_6	28
Diamond D.	SE_P64	168		Fanelli M.	AM_P86	190
Diomede S.	OTC_1	23		Fantauzzi M.	OBC-SA_6	40
Ditaranto N.,	SA_P2	106			SA_P1	105
Dolci L.S.	OBC-SA_3	37		Favero G.	SE_P55	159
	TC_P21	125		Fazio A.	AL_P41	145
Donato P.	OAL_8	18		Fazzina R.	BA_P78	182
	TS_P3	107		Fernandez E.G.	SE_P63	167
	TC_P23	127		Ferri E.	OBC-SA_7	41
Donnarumma D.	OPR-BA_10	53			AL_P35	139
Donoghue P.	OPR-BA_13	56		Festa M.R.	BA_P74	178
Dorschel C.	OPR-BA_13	56			BA_P76	180
Dossi C.	OBC-SA_9	43			EQ_P114	218
	AM_P89	193			EQ_P115	219
	EQ_P105	209		Fibbi D.	OAL_6	16
	EA_P118	222		Foglia P.	AL_P40	144
Dossi N.	OSE-EA_9	99		Fontanini D.	OPR-BA_6	49
	EA_P116	220		Forina M.	OCH_2	76
Dragone R.	OAL_10	20			CH_P47	151
	AM_P93	197		Forni C.	OSE-EA_4	94
Dsoke S.	OSE-EA_8	98		Foti C.	OEQ_4	69
Dugo G.	OTS_9	65			OEQ_6	71
	TS_P3	107		Foti S.	OPR-BA_6	49
	TS_P4	108		Frache R.	OAM_10	88
	TS_P8	112		Fragassi A.	AM_P87	191
	TS_P9	113		Francesconi S.	OAM_8	86
	TC_P23	127		Frascarolo P.	OTC_4	26
	TC_P24	128			AM_P90	194
Dugo P.	OAL_8	18			AM_P101	205
	OTS_9	65				

	AM_P102	206			
Fratantuono G.	BA_P81	185	Giuffrida D.	EQ_P111	215
Fuoco R.	OAM_8	86	Giunti I.	OAL_8	18
Furia E.	OEQ_5	70	Giussani B.	OCH_1	75
	EQ_P106	210		OCH_1	75
Furlanetto S.	OTS_7	63		BC_P33	137
	AL_P44	148		EA_P118	222
<b>G</b>			Glueckmann M.	OPR-BA_7	50
Gabriele B.	AL_P41	145	Gorassini A.	OBC-SA_4	38
Gabrieli J.	OAM_7	85	Gordano C.	TS_P5	109
Gagliano G.	OAM_4	82	Gosetti F.	OTC_4	26
	TS_P12	116		OTS_2	58
Galceran J.	EQ_P108	212		OCH_4	78
Galvan P.	OAL_6	16		AM_P90	194
Gambero A.	AM_P103	207		AM_P101	205
Gambino G. L.	OAM_4	82		AM_P102	206
	TS_P12	116	Gotti R.	AL_P44	148
Gargano M.	TS_P12	116	Gozzi S.	AL_P35	139
Garozzo D.	OPR-BA_5	48	Grandi M.	OAL_1	11
Gatta T.	BA_P77	181		AL_P38	142
Gattuso C.	BC_P34	138	Greci F.	OBC-SA_7	41
Gennaro M. C.	OCH_4	78		AL_P35	139
	OTC_4	26	Grosa M.	OAM_6	84
	AM_P90	194	Grossi R.	AL_P43	147
	AM_P101	205	Grotti M.	OAM_10	88
	AM_P102	206	Guardigli M.	OBC-SA_3	37
	OTS_2	58	Guarnieri G.	OBC-SA_7	41
Gentile L.	EQ_P115	219		AL_P35	139
	EQ_P114	218	Guascito M.R.	OBC-SA_8	42
Gentili A.	AL_P36	140	Gubbiotti R.	PR_P66	170
Gerace E.	OTS_4	60	Guerrieri A.	OSE-EA_3	93
Germano G.	OEQ_3	68		BA_P81	185
	OEQ_7	72	Guiso M. G.	OEQ_2	67
Geromanos S.	OPR-BA_13	56	Gulmini M.	OBC-SA_2	36
Ghimenti S.	OAM_8	86	Gurevich E. L. R.	OBC-SA_9	43
	BA_P79	183	<b>H</b>		
Giachi G.	BC_P29	133	Hergenröder	OBC-SA_9	43
Giacomino A.	OAM_6	84	Herrero M.	OAL_8	18
Gianguzza A.	EQ_P104	208	Husson G.P.	CH_P50	154
	EQ_P107	211	<b>I</b>		
	EQ_P113	217	Iacovone M.	OPR-BA_8	51
Giannarelli S.	OAM_8	86	Illuminati S.	OSE-EA_12	102
Giannetto M.	OSE-EA_1	91	Impey G.	OPR-BA_7	50
	TS_P15	119	Indelicato S.	PR_P67	171
Giannini I.	OTS_7	63		PR_P68	172
Gianotti V.	OTC_4	26	Insogna S.	AM_P98	202
	AM_P90	194		AM_P99	203
	AM_P101	205	Ioele G.	CH_P49	153
	AM_P102	206		CH_P50	154
Giansanti P.	AL_P40	144	Iuliani P.	TS_P6	110
Ginepro M.	AM_P83	187		TS_P16	120
	OAM_3	81	Iuliano M.	OEQ_3	68
Girotti S.	OBC-SA_7	41		OEQ_7	72
	AL_P35	139	<b>J</b>		
Giuffrè O.	OEQ_6	71	James P.	OPR-BA_9	52

Janssens K.	BC_P29	133			AL_P45	149
Johann C.	OPR-BA_10	53		Maggi M. A.	OTS_1	57
<b>K</b>					CH_P48	152
Kiss A.	AM_P87	191		Magnani A.	AM_P88	192
Kolary-Zurowska A.	OSE-EA_8	98		Maialini E.	OBC-SA_7	41
Kulesza P.J.	OSE-EA_8	98		Maina G.	AM_P85	189
<b>L</b>				Mainero Rocca L.	AL_P36	140
Labella C.	TS_P10	114		Majorani C.	SE_P58	162
Laganà A.	AL_P40	144		Malandrino M.	OAM_6	84
	PR_P66	170		Malitesta C.	OBC-SA_8	42
	PR_P72	176			SE_P56	160
	PR_P73	177			SE_P57	161
Lamperi L.	OAL_6	16		Mancini S.	AL_P38	142
Lando G.	EQ_P112	216		Manfredi G.	EQ_P110	214
Langridge J.	OPR-BA_13	56		Manganelli D.	AM_P91	195
Lanteri S.	AL_P44	148		Mangia A.	OPR-BA_1	44
Larese Filon F.	AM_P85	189			OTS_5	61
Laschi S.	SE_P63	167			PR_P65	169
	SE_P54	158			BA_P75	179
Lasi G.	AL_P35	139		Mangiacotti M.	OAL_12	22
Laviano R.	BC_P30	134		Manz A.	PL2	2
Leardi R.	CH_P51	155		Manzini S.	OAL_1	11
Lelario F.	TS_P11	115		Maraschi F.	AM_P100	204
Lelo D.	AM_P93	197		Marassi R.	OSE-EA_8	98
	AM_P97	201		Marcaccio M.	TC_P21	125
Leo G.	OPR-BA_11	54		Marchesani G.	OAL_12	22
Leonardis I.	OTS_3	59		Marchese S.	AL_P36	140
Leporati M.	OAL_9	19		Marchetti A.	AL_P38	142
Lercker G.	OAL_4	14			OAL_1	11
Lestingi C.	BA_P82	186		Marchetti L.	PR_P69	173
Levander F.	OPR-BA_9	52		Marelli M.	OCH_1	75
Libralato S.	OAM_1	79		Marengo E.	OAL_2	12
Li Vigni M.	OAL_1	11			OAL_5	15
	AL_P38	142			OTS_2	58
Licciardello C.	OPR-BA_6	49			OCH_3	77
Litescu S.C.	SA_P2	106			OCH_4	78
Lo Feudo G.	OAL_3	13		Marino F.	CH_P53	157
	AL_P45	149			OAM_9	87
Lo Mastro S.	OBC-SA_5	39			OAM_11	89
Lo Schiavo F.	PR_P65	169			AM_P95	199
Locatelli C.	CH_P52	156			AM_P96	200
	EA_P119	223		Marino G.	OPR-BA_4	47
Lopez M.	OPR-BA_3	46			OPR-BA_10	53
Losito I.	OTC_1	23			OPR-BA_11	54
Lucarelli F.	AM_P94	198		Marrazza G.	OSE-EA_6	96
	AM_P95	199			SE_P63	167
	AM_P96	200			SE_P54	158
Łucejko J.J.	BC_P29	133		Marrone A.	TS_P6	110
Luciano G.	CH_P51	155		Martini E.	AL_P43	147
Lukkari J.	OSE-EA_5	95			SE_P55	159
Luprano J.	SE_P64	168			AM_P97	201
<b>M</b>				Marynowski L.	OAM_2	80
Macchione B.	OAL_3	13		Marzocchi E.	TC_P21	125
				Mascini M.	AM_P87	191
					OSE-EA_2	92

	OSE-EA_6	96		OTC_7	29
	SE_P54	158		OTS_9	65
	SE_P62	166		TS_P4	108
	SE_P63	167		TS_P8	112
Materazzi S.	PR_P69	173		TS_P9	113
Mattarozzi M.	OTS_5	61		TC_P23	127
	TS_P15	119		TC_P24	128
Mazzei F.	SE_P55	159		AL_P37	141
Mazzeo P.	OTS_1	57		AL_P41	145
	CH_P48	152	Mondello M.	TS_P4	108
	AM_P86	190	Monno A.	BC_P30	134
Mazzeo R.	OBC-SA_3	37	Monticelli D.	OBC-SA_9	43
Mazzotta E.,	SE_P57	161		AM_P89	193
Mazzotti F.	OTC_2	24	Moranti A.	AM_P91	195
	TC_P22	126	Morganti A.	OAM_9	87
	PR_P67	171	Mori G.	OSE-EA_1	91
Mazzuca C.	OBC-SA_5	39	Morselli L.	BC_P29	133
Mazzucco E.	OTC_4	26	Moscone D.	OSE-EA_4	94
Mazzucco E.	OTS_2	58		SE_P58	162
	AM_P90	194		SE_P59	163
	AM_P101	205		SE_P60	164
	AM_P102	206		BA_P80	184
Melucci D.	CH_P51	155	Mottana A.	OBC-SA_5	39
	CH_P52	156	Muccilli V.	OPR-BA_6	49
	EA_P119	223	Municchi M.	TS_P5	109
Mentasti E.	OAM_6	84	Murgia L.	BA_P79	183
Merli D.	OEQ_8	73	Muscoli C.	AL_P46	150
	OEQ_9	74	<b>N</b>		
Merlone Borla E.	OAM_5	83	Naccarato A.	OAL_3	13
Merusi C.	OTC_10	32	Nanni P.	OPR-BA_9	52
	AL_P39	143	Napoleoni F.	OBC-SA_5	39
Messina A.	OPR-BA_5	48	Napoli A.	TC_P17	121
Mezzanotte L.	OPR-BA_9	52	Napoli A. M	OTC_2	24
	SE_P61	165		PR_P67	171
	BA_P78	182		PR_P68	172
Micheli L.	OBC-SA_5	39		PR_P69	173
	BA_P80	184		SE_P62	166
Michelini E.	SE_P61	165	Narcisi V.	TC_P25	129
	BA_P78	182	Nardelli V.	AM_P94	198
Mignini P.	OSE-EA_8	98	Nava S.	AM_P95	199
Milea D.	OEQ_6	71		AM_P96	200
	EQ_P109	213	Nichelini E.	SE_P59	163
	EQ_P110	214	Nicoletti I.	OTS_6	62
	EQ_P112	216	Nistri D.	TS_P5	109
Milesi F.	AL_P35	139	Novario G.	OTC_5	27
Miliazza A.	OTC_9	31	Nuccilli A.	OAL_10	20
Minunni M.	OSE-EA_2	92	<b>O</b>		
Mirasoli M	OPR-BA_12	55	Oddone M.	OAL_2	12
Miriello D.	BC_P27	131		OAL_5	15
Mita D.G.	SE_P60	164	Oliveri P.	OCH_2	76
Modugno F.	BC_P28	132		CH_P47	151
	BC_P29	133	Oliverio F.	CH_P49	153
Mollace V.	AL_P46	150		CH_P50	154
Mondello L.	TS_P3	107	Ongarato S.	OTS_5	61
	OAL_8	18			

Onor M.	OAM_8	86			
	BA_P79	183			
Orecchio S.	EA_P117	221			
Orlandini S.	OTS_7	63			
Orlando D.	TS_P11	115			
<b>P</b>					
Pagano P.	OAM_4	82			
	TS_P12	116			
Pagnoni A.	OTS_8	64			
Palchetti I.	OSE-EA_6	96			
	SE_P63	167			
Palermo C.	OAL_7	17			
	TC_P25	129			
Palleschi G.	OBC-SA_5	39			
	OSE-EA_4	94			
	SE_P58	162			
	SE_P59	163			
	BA_P80	184			
Palm C.	PL2	2			
Palma P.	OTC_6	28			
	OTS_3				
Palmese A.	OPR-BA_4	47			
Palmigiano A.	OPR-BA_5	48			
Palmisano F.	OTC_1	23			
	OBC-SA_1	35			
	OPR-BA_8	51			
	AL_P42	146			
	OTC_11	33			
Pantò V.	TS_P12	116			
Paolicchi A.	BA_P79	183			
Paolucci F.	TC_P21	125			
Parise A.	TC_P20	124			
Parise M.R.	TC_P18	122			
	TC_P19	123			
	TC_P20	124			
Parussa F.	OAM_5	83			
Passarini F.	BC_P29	133			
Pellegrino M.	TC_P18	122			
Pellizzi E.	OBC-SA_2	36			
Peluso A.	OSE-EA_11	101			
Pepe A.	AM_P87	191			
Perret D.	AL_P36	140			
Perri E.	TC_P18	122			
	TC_P19	123			
	TC_P20	124			
Perrone M.G.	AM_P103	207			
Pesavento M.	OAL_11	21			
	OEQ_2	67			
	OEQ_9	74			
	EQ_P105	209			
Pession A.	BA_P78	182			
Peterman S.	OPR-BA_3	46			
Petrucci G.	TC_P17	121			
Pettignano A.	EQ_P104	208			
	EQ_P112	216			
			EQ_P113	217	
			EQ_P104	208	
			EQ_P107	211	
			SE_P54	158	
			OTC_6	28	
			BA_P82	186	
			TS_P7	111	
			OSE-EA_1	91	
			OSE-EA_5	95	
			OTC_12	34	
			SE_P56	160	
			OTC_11	33	
			AL_P43	147	
			OTS_7	63	
			AL_P44	148	
			AL_P37	141	
			OAM_12	90	
			OBC-SA_5	39	
			OSE-EA_9	99	
			EA_P116	220	
			EQ_P105	209	
			SE_P60	164	
			OEQ_5	70	
			EQ_P106	210	
			OPR-BA_3	46	
			OAM_3	81	
			OEQ_1	66	
			OAL_11	21	
			OEQ_8	73	
			OEQ_9	74	
			AM_P100	204	
			EQ_P108	212	
			OBC-SA_5	39	
			Proposito M.		
			<b>Q</b>		
			Quinto M.	OAL_7	17
			<b>R</b>		
			Racca S.	OTS_4	60
			Raccanelli S.	OAM_1	79
			Radoi A.	BA_P80	184
			Radu G.L.,	SA_P2	106
			Ragno G.	CH_P49	153
				CH_P50	154
			Ragonese C.	TS_P9	113
			Ramazzi L.	BC_P33	137
			Rambaldi D. C.	OPR-BA_10	53
				PR_P70	174
				PR_P71	175
			Rampino V.	BA_P74	178
				BA_P76	180
			Recchia S.	OCH_1	75
				EA_P118	222
			Reforgiato	OPR-BA_6	49
			Recupero G.		
			Reisenhofer E.	AM_P84	188

	AM_P85	189				
Reschiglian P.	OPR-BA_10	53		SA_P2	106	
	OPR-BA_12	55		BC_P30	134	
	PR_P70	174	Sabbieti M.G.	PR_P69	173	
	PR_P71	175	Sacchetti P.	PR_P73	177	
Reymond F.	SE_P63	167	Salber D.	PL2	2	
	TS_P7	111	Salerno C. S.	OBC-SA_5	39	
Ricciardi G.	SA_P1	105	Salerno R.	OTC_2	24	
Rigoldi A.	TS_P13	117		TC_P22	126	
Ritorti M.	TC_P20	124	Saletti R.	OPR-BA_6	49	
Rizzati B.	SE_P64	168	Salomone A.	OTS_4	60	
Robert V.	OAL_2	12	Salvadeo P.	OTC_10	32	
Robotti E.	OAL_5	15	Salvatore A.	TS_P8	112	
	OCH_3	77	Salvo P.	SE_P64	168	
	OCH_4	78	Sammartano S.	OEQ_4	69	
	CH_P53	157		OEQ_6	71	
				EQ_P104	208	
				EQ_P107	211	
Roda A.	OBC-SA_3	37		EQ_P109	213	
	OPR-BA_9	52		EQ_P110	214	
	OPR-BA_12	55		EQ_P111	215	
	TC_P21	125		EQ_P112	216	
	SE_P61	165		EQ_P113	217	
	BA_P78	182				
				PR_P66	170	
Roda B.	OPR-BA_12	55	Samperi R.	PR_P72	176	
Roda E.	OPR-BA_9	52		PR_P73	177	
Roda G.	OPR-BA_9	52		PR_P70	174	
Romano E.	TC_P18	122	Sanz-Medel A.	AL_P46	150	
	TC_P19	123	Scalzo A.	OSE-EA_2	92	
	TC_P20	124	Scarano S.	OSE-EA_12	102	
			Scarponi G.	EQ_P113	217	
Romano V.	EA_P117	221	Sciarrino S.	EQ_P113	217	
Romolo F.S.	TS_P14	118	Sciarrone D.	OTS_9	65	
Roncoroni S.	BC_P33	137		TC_P24	128	
	EA_P118	222				
Roncucci G	TS_P5	109	Scigelova M.	OPR-BA_3	46	
			Sciutto G.	OBC-SA_3	37	
			Scollo E.	OAM_4	82	
Rossi A.	OBC-SA_4	38	Scordino M.	OAM_4	82	
	OBC-SA_6	40	Scordino M.	TS_P12	116	
	SA_P1	105	Sebastiani E.	OTC_9	31	
Rossier J.S.	SE_P63	167	Seeber R.	OSE-EA_5	95	
Rossino C.	OAL_9	19	Seeber R.	OSE-EA_1	91	
Rotiroti D.A.	AL_P46	150	Sergi M.	TS_P14	118	
Rotunno T.	OAL_7	17	Sergi M.	AM_P87	191	
Rubino A.	TS_P11	115	Sergi M.	OAM_9	87	
Ruffolo S.	BC_P34	138	Severi M.	OAM_11	89	
Ruggieri F.	OTS_1	57		AM_P91	195	
	CH_P48	152		AM_P92	196	
Ruggirei F.	AM_P86	190		AM_P94	198	
	OAM_11	89	Sgamellotti A.	OPR-BA_11	54	
	AM_P92	196	Sidisky L.	OTS_5	61	
	AM_P94	198	Siepe F.	OTS_6	62	
	AM_P95	199	Sighinolfi S.	OAL_1	11	
Russo M.	AL_P37	141		AL_P38	142	
Russo M. P.	OPR-BA_6	49	Simoneit B. R. T.	OAM_2	80	
			Sindona G.	OAL_3	13	
<b>S</b>				OTC_2	24	
Sabatino L.	OAM_4	82				
	TS_P12	116				
Sabbatini L.	OBC-SA_1	35				



	OPR-BA_12	55
	PR_P70	174
	PR_P71	175
Zavarise F.	EQ_P108	212
Zelano V.	OAM_3	81
	AM_P83	187
Zerbinati, O	OCH_3	77
Zianni R.	OTC_5	27
Zoccolillo L.	AM_P98	202
	AM_P99	203
Zoriy M.	PL2	2
Zurowski A.	OSE-EA_8	98

