



Università degli Studi di Camerino
Dipartimento di Scienze Chimiche



Società Chimica Italiana
Divisione di Chimica Analitica

XIV CONGRESSO NAZIONALE DI CHIMICA ANALITICA



**Il ruolo della Chimica Analitica
nei settori emergenti**

10-13 Giugno 1998
Numana (Ancona)

Riassunti

Paolucci



Università degli Studi di Camerino
Dipartimento di Scienze Chimiche



Società Chimica Italiana
Divisione di Chimica Analitica

**XIV
CONGRESSO NAZIONALE
DI CHIMICA ANALITICA**

**Il ruolo della Chimica Analitica
nei settori emergenti**

10-13 Giugno 1998
Numana (Ancona)

Riassunti

SCI-DCA



Chimica Italiana
Società Chimica Italiana



Università del Piemonte Orientale
Università del Piemonte Orientale

XIV
CONGRESSO NAZIONALE
DI CHIMICA ANALITICA

Il ruolo della Chimica Analitica
nei settori emergenti

11-17 Giugno 1988
Torino (Italia)

Hauschild

SCI-DCA

ore	Argomento
ore 15:00-15:15	Apertura dei lavori
ore 15:15-16:00	L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. b)
ore 16:00-16:20	F. 104/1976 Presidente: P. Desiderio
ore 16:20-17:40	<u>M. Tassinari</u> , <u>F. F. Russo</u> , <u>U. De Santis</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: F. F. Russo
ore 17:40-18:30	<u>J. M. Garcia</u> , <u>N. J. Sabliani</u> , <u>P. G. Zamponi</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: P. G. Zamponi
ore 18:30-17:20	<u>A. Gualtieri</u> , <u>K. Chiodi</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: K. Chiodi
ore 17:20-17:40	<u>P. G. Zamponi</u> , <u>L. M. Rossi</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: P. G. Zamponi
ore 17:40-18:00	L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: P. G. Zamponi
ore 18:00-18:15	Presidente: P. G. Zamponi
ore 18:15-19:30	<u>C. G. M. Tassinari</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: C. G. M. Tassinari
ore 19:30-19:50	<u>C. G. M. Tassinari</u> , <u>F. F. Russo</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: C. G. M. Tassinari
ore 19:50-20:10	<u>N. J. Sabliani</u> , <u>J. M. Garcia</u> , <u>P. G. Zamponi</u> L. 104/1976, art. 30, comma 1, lett. a) Presidente: P. G. Zamponi

Programma

Mercoledì 10 Giugno 1998

- ore 15:00-15:15 Apertura lavori
Presiede: R. Marassi
- ore 15:15-16:00 Conferenza Plenaria
M. De Crescenzi
Investigazione strutturale di superficie con spettroscopia STM e diffusione di elettroni.
- ore 16:00-16:20 Pausa Caffè
Presiede: E. Desimoni
- ore 16:20-16:40 M. Mirasoli, P. Pasini, C. Russo, M. Lotierzo, P. Valenti, A. Roda
Sistemi analitici chemiluminescenti ad alta produttività (HTS) per lo studio e sviluppo di nuovi farmaci.
- ore 16:40-17:00 E. De Giglio, L. Sabbatini, P. G. Zambonin
Funzionalizzazione di film polipirrolici con residui cisteinici: caratterizzazione analitica mediante XPS e EQCM.
- ore 17:00-17:20 A. Guerrieri, R. Ciriello
Immobilizzazione di proteine ed enzimi tramite deposizione elettroforetica. Uno studio elettrochimico/EQCM.
- ore 17:20-17:40 P. Serena, A. Tapparo, G. G. Bombi
Monitoraggio biologico dell'esposizione a benzene. Determinazione diretta dell'acido t,t-muconico nelle urine mediante HPLC bidimensionale.
- ore 17:40-19:00 *Visione Posters*

Giovedì 11 Giugno 1998

- Presiede: P. G. Zambonin
- ore 08:45-09:30 Conferenza Plenaria
K. Cammann
Novel chemo-and biosensors for process control biotechnology and environmental research.
- ore 09:30-09:50 I. Rosso, A. Vanni, G. Giraudi, C. Baggiani, C. Giovannoli, G. Grassi
Sviluppo di un saggio immunoenzimatico per la determinazione del fungicida benalaxyl in vini piemontesi.
- ore 09:50-10:10 M. Pesavento, E. Baldini, A. Profumo, R. Biesuz, G. Alberti
Preconcentrazione di metallo-ioni su resine complessanti: confronto fra il metodo in batch e in colonna.

- ore 10:10-10:30 **C. G. Zambonin, F. Catucci, F. Palmisano**
Determinazione di triazine in campioni di terreno e sedimenti mediante microestrazione in fase solida-gascromatografia/spettrometria di massa (SPME-GC/MS).
- ore 10:30-10:50 **M. Taddia, P. Sternini**
Sviluppo e controllo di un metodo spettrometrico di assorbimento atomico per la determinazione del rutenio in catalizzatori.
- ore 10:50-11:10 Pausa Caffè
Presiede: E. Pelizzetti
- ore 11:10-11:30 **C. Brunori, C. Cremisini, Z. Mester, R. Morabito**
Estrazione sequenziale di metalli da campioni di ceneri volanti.
- ore 11:30-11:50 **D. Desideri, S. Degetto, C. Testa, F. Guerra, M. A. Meli, C. Roselli**
Speciazione di radionuclidi antropogenici (Pu, Am, Cs-137) e naturali (U, Th, E K-40) in un sedimento della laguna di Venezia.
- ore 11:50-12:10 **V. Di Noto, M. Mecozzi, M. Vidali**
Metodo di normalizzazione mediante standard interno nella determinazione accurata di carbonio organico in sedimenti marini.
- ore 12:10-12:30 **A. Bianco Prevot, E. Pramauro**
Degradazione abiotica di carbaryl in presenza di anffili.
- ore 12:30-12:50 **C. Minero, E. Pelizzetti, V. Maurino**
Determinazione di tensioattivi nonionici etossilati mediante cromatografia liquida con rivelazione a fluorescenza dopo derivatizzazione-estrazione.
- ore 12:50-13:10 **P. Primerano, S. Di Pasquale, L. Mavilia, F. Corigliano**
Formazione di acidità primaria forte nel particolato da combustione: cause e rimedi.
- ore 13:10-15:00 Intervallo
Presiede: P. Cescon
- ore 15:00-15:20 **A. Gambaro, R. Piazza, F. Corami, P. Cescon, G. Scarponi, I. Moret**
Dimetilsolfuro, solfuro di carbonio e dimetilsolfoniopropionato in acqua superficiale della laguna di Venezia: determinazione ed evoluzione stagionale.
- ore 15:20-15:40 **C. Barbante, M. Krakler, G. Cozzi, G. Capodaglio, G. Scarponi, P. Cescon**
Determinazione di elementi in tracce in acqua di mare e neve polare mediante HR-ICP-MS. Valutazioni ambientali.
- ore 15:40-16:00 **N. Calace, B. M. Petronio, M. Capolei, M. Lucchese**
Struttura dei composti umici per l'individuazione di possibili fonti di carbonio organico.
- ore 16:00-16:20 **S. Zappoli, A. Andracchio, D. Tonelli, S. Fuzzi, M. C. Facchini**
La determinazione del carbonio organico in campioni atmosferici.
- ore 16:20-16:40 Pausa Caffè

Presiede: A. Vanni

ore 16:40-17:00

M. Mecozzi, M. Amici, E. Pietrantonio

Determinazione colorimetrica di carboidrati totali in campioni di acqua e particolato marino: miglioramento mediante ultrasuoni dell'efficienza dell'idrolisi preliminare

ore 17:00-17:20

M. Careri, A. Mangia, M. Musci, D. Poli

Impiego di tecniche di estrazione in fase gas per la determinazione del protossido di azoto in matrici ambientali mediante cromatografia gas-solido ad alta risoluzione.

ore 17:20-19:00

Visione Posters

19³⁰ → 18¹⁵

→ ELETTROANALITICA (RIUNIONE GRUPPO)

Venerdì 12 Giugno 1998

Presiede: F. Cariati

ore 08:45-09:30

Conferenza Plenaria

R. Alfonsetti

Applicazioni della Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry per l'analisi di elementi in tracce.

ore 09:30-09:50

R. Aruga

Studi su due problemi relativi ai dati analitici. Il trattamento dei dati sotto il detection limit e il problema della "chiusura" dei dati.

ore 09:50-10:10

G. De Benedetto, F. Palmisano, L. Sabbatini, P. G. Zambonin, J. A. Mielczarski

Caratterizzazione spettro-analitica di un film di polipirrolo metossilato utilizzato come barriera permelettiva in biosensori amperometrici.

ore 10:10-10:30

G. Marrazza, M. Mascini, I. Chianella

Realizzazione di un biosensore elettrochimico monouso al DNA per misure ambientali.

ore 10:30-10:50

A. Marcomini, C. Pojana, C. Carrer

Biodegradazione di alcoli polietossilati alifatici.

ore 10:50-11:10

Pausa Caffè

Presiede: G. Torsi

ore 11:10-11:30

S. Bruni, F. Cariati, F. Casadio

Le spettroscopie micro-FTIR e micro-RAMAN per la caratterizzazione dei pigmenti inorganici in antiche opere d'arte.

ore 11:30-11:50

O. Abollino, M. Aceto, M. Bruzoniti, E. Mentasti, C. Sarzanini

Speciazione di rame e manganese in latte mediante SPE/ICP-AES.

ore 11:50-12:10

B. Ballarin, R. Seeber, D. Tonelli, C. Zanardi

Elettrodi ricoperti con idrotalciti contenenti Ni(II) quali sensori amperometrici. Analisi di alcoli.

- ore 12:10-12:30 **E. Desimoni, P. Banfi**
Confronto di alcune tecniche voltammetriche per la quantificazione del Cr(III) e del Cr(VI) in matrici reali.
- ore 12:30-12:50 **C. Macca, G. G. Bombi, V. Di Marco, L. Soldà, M. Zancato**
Applicazioni analitiche di titolazioni pH-statiche.
- ore 12:50-15:00 Intervallo

Presiede: R. Seeber
- ore 15:00-15:20 **L. G. Moretto, P. Ugo, G. A. Mazzocchin**
Determinazione voltammetrica di tracce di metilmercurio su elettrodi modificati con nafion mediante tecniche impulsate classiche e ad onda quadra multipla.
- ore 15:20-15:40 **M. Baldo, S. Daniele, C. Bragato, G. A. Mazzocchin, G. Denuauld, M. Abdelsalam**
Comportamento voltammetrico dello ione idrossido in soluzioni acquose con microelettrodi d'oro. Possibilità di applicazioni analitiche.
- ore 15:40-16:00 **M. Giannetto, G. Mori, A. Notti, S. Pappalardo, M. F. Parisi**
Elettrodi ionoselettivi per lo ione n-butilammonio basati su calix[5]areni funzionalizzati.
- ore 16:00-16:20 **D. Moscone, E. Marconi, R. A. Bernardo, G. Palleschi**
Messa a punto di un sistema elettrochimico in flusso continuo per la misura rapida del lattulosio nel latte.
- ore 16:20-16:40 Pausa Caffè

Presiede: G. Cartoni
- ore 16:40-17:00 **P. Reschiglian, A. Zattoni, M. Miller, M. Hansen**
Un canale di frazionamento in campo flusso (FIFFF) di tipo innovativo per la caratterizzazione di analiti supramolecolari in dispersione.
- ore 17:00-17:20 **I. Casella, S. Rosa, C. G. Zambonin**
Determinazione di ammine alifatiche in cromatografia liquida tramite l'impiego di un elettrodo a base grafite modificato con ioni nichel.
- ore 17:20-17:40 **C. Dossi, A. Fusi, S. Recchia, V. Dal Santo, R. Pesaro, M. Rugo, G. Ausenda**
Sviluppo di uno spettrometro di massa quadrupolare con sorgente ionica di tipo "enclosed" per misure termochimiche ed ambientali.
- ore 17:40-20:00 Assemblea Divisione
- ore 20:30 Cena sociale

Presiede: A. Roda

ore 09:00-10:00

A. Mangia, M. Mori, C. Mucchio

Realizzazione di un sistema di acquisizione dati in rete in un laboratorio di Chimica Analitica.

ore 10:00-11:00

P. G. Zambonin

Presentazione curriculum didattico FECS.

ore 11:00

Chiusura lavori

Title	Author	Date	Accession No.
Title of the first document	Author of the first document	Date of the first document	Accession No. of the first document
Title of the second document	Author of the second document	Date of the second document	Accession No. of the second document
Title of the third document	Author of the third document	Date of the third document	Accession No. of the third document
Title of the fourth document	Author of the fourth document	Date of the fourth document	Accession No. of the fourth document
Title of the fifth document	Author of the fifth document	Date of the fifth document	Accession No. of the fifth document
Title of the sixth document	Author of the sixth document	Date of the sixth document	Accession No. of the sixth document
Title of the seventh document	Author of the seventh document	Date of the seventh document	Accession No. of the seventh document
Title of the eighth document	Author of the eighth document	Date of the eighth document	Accession No. of the eighth document
Title of the ninth document	Author of the ninth document	Date of the ninth document	Accession No. of the ninth document
Title of the tenth document	Author of the tenth document	Date of the tenth document	Accession No. of the tenth document
Title of the eleventh document	Author of the eleventh document	Date of the eleventh document	Accession No. of the eleventh document
Title of the twelfth document	Author of the twelfth document	Date of the twelfth document	Accession No. of the twelfth document
Title of the thirteenth document	Author of the thirteenth document	Date of the thirteenth document	Accession No. of the thirteenth document
Title of the fourteenth document	Author of the fourteenth document	Date of the fourteenth document	Accession No. of the fourteenth document
Title of the fifteenth document	Author of the fifteenth document	Date of the fifteenth document	Accession No. of the fifteenth document
Title of the sixteenth document	Author of the sixteenth document	Date of the sixteenth document	Accession No. of the sixteenth document
Title of the seventeenth document	Author of the seventeenth document	Date of the seventeenth document	Accession No. of the seventeenth document
Title of the eighteenth document	Author of the eighteenth document	Date of the eighteenth document	Accession No. of the eighteenth document
Title of the nineteenth document	Author of the nineteenth document	Date of the nineteenth document	Accession No. of the nineteenth document
Title of the twentieth document	Author of the twentieth document	Date of the twentieth document	Accession No. of the twentieth document
Title of the twenty-first document	Author of the twenty-first document	Date of the twenty-first document	Accession No. of the twenty-first document

- 67 **G. Carlucci, P. Mazzeo**
Off-line solid-phase extraction with styrene-divinylbenzene cartridges for determining chlorpyrifos in water by reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode array detection.
- 68 **A. C. Manetta, F. Piazza, P. Simoni, R. Lelli, G. Migliorati, K. Afandi, A. Roda**
Sviluppo di un metodo immunoenzimatico chemiluminescente per la determinazione di farmaci ad azione β -agonista in urina bovina.
- 69 **L. Campanella, M. Positano, M. Tomassetti**
Analisi e caratterizzazione di affreschi del II secolo d.C. con tecniche di analisi chimica strumentale.
- 70 **T. R. I. Cataldi, C. Campa, P. Di Vito**
Determinazione di maltitolo, isomaltitolo e lattitolo in prodotti dietetici e naturali mediante HPAEC con rivelazione amperometrica pulsata.
- 71 **E. Magi, C. Ianni, R. Frache**
Analisi di metalloporfirine mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa con interfaccia particle beam.
- 72 **A. De Robertis, C. De Stefano, C. Foti, A. Gianguzza S. Sammartano**
Interazioni polianione-poli-ammina protonata: interesse nella speciazione di fluidi naturali.
- 73 **G. Torsi, C. Locatelli, P. Reschiglian, D. Di Cintio**
Modifiche del sistema di atomizzazione e di alimentazione per il miglioramento di misure senza standards in spettroscopia di assorbimento atomico elettrotermico.
- 74 **A. Guerrieri, R. Ciriello, A. Salernitano**
Sviluppo di biosensori amperometrici per il glucosio basati su deposizione enzimatica elettroforetica e film permeattivi elettrosintetizzati.
- 76 **G. C. Franchini, A. Marchetti, L. Tassi, A. Ulrici, G. Vaccari**
Volumetric behaviour of 1,2-ethanediol + 2-methoxyethanol + water ternary system
- 78 **G. C. Franchini, A. Marchetti, L. Tassi, A. Ulrici, G. Vaccari**
Thermodynamic behaviour of picric acid and sodium picrate in 2-methoxyethanol.
- 79 **C. Contado, F. Dondi**
Separazione di granuli di amido mediante celle split.
- 80 **S. Susmel, M. Mascini**
Biosensori per la rilevazione elettrochimica di biotossine.
- 81 **M. Careri, A. Mangia, G. Mori, M. Musci**
Impiego dell'analisi multivariata nella ottimizzazione dell'estrazione degli acidi grassi liberi del parmigiano-reggiano.

- 82 **S. Hernandez, M. Mascini**
Determinazione dell'attività anticolinesterasica usando un biosensore amperometrico in campioni reali.
- 83 **C. Malitesta, I. Losito, L. Sabbatini, P. G. Zambinin**
Inclusione elettrochimica di zeoliti in polimeri conduttori. Caratterizzazione del materiale e uso in un sensore per la dopamina.
- 84 **G. Adami, P. Barbieri, F. Bon, M. Miletic, E. Reisenhofer**
Determinazione voltammetrica (DPASV) di metalli pesanti in otoliti di Tinca Tinca (L., 1758) (Osteichthyes, Cyprinidae) per la valutazione di acque dolci.
- 85 **M. Colombini, F. Modugno, E. Bresciani, F. Silvano**
Caratterizzazione dei balsami presenti in una mummia egiziana del VII sec. A. C.
- 86 **E. Prenesti, P. G. Daniele, G. Ostacoli**
Studio potenziometrico e spettroscopico di complessi metallici di nucleosidi in soluzione acquosa.
- 87 **A. Casoli, C. Grazioli, G. Palla**
Le gomme vegetali in campo artistico. Un approccio analitico al problema della caratterizzazione.
- 88 **C. Locatelli, G. Torsi**
Determinazione di metalli pesanti in matrici ambientali in presenza di interferenti. Tensioattivi anionici e non ionici.
- 89 **I. Casella, M. Guascito, M. G. Sannazzaro**
Caratterizzazione di un elettrodo oro-nichel per la determinazione amperometrica di carboidrati ed amminoacidi previa separazioni cromatografiche a scambio anionico.
- 90 **E. Desimoni**
Sullo smoothing della deviazione standard per la regressione lineare pesata mediante metodo dei minimi quadrati.
- 92 **L. Campanella, S. De Luca, G. Favero, M. Tomassetti**
Biosensori a superossido dismutasi operanti in solventi acquosi e non acquosi.
- 93 **P. Barbieri, D. L. Massart, S. Predonzani, G. Adami, E. Reisenhofer**
Dinamiche di parametri chimico-fisici e clorofille nelle acque del golfo di Trieste.
- 94 **M. Careri, P. Lombardi, C. Mucchino**
Influenza di modificatori organici nell'eluente cromatografico sulla determinazione di carotenoidi mediante tecnica LC-MS con interfaccia particle beam.
- 96 **R. Piazza, A. Gambaro, M. Benedetti, I. Moret, P. Cescon**
Determinazione di policlorobifenili (PCB.s) nei sedimenti della laguna di Venezia. Confronto fra aree sottoposte a differente impatto antropico.

- 99 **A. Cavazzini, M. Remelli, F. Dondi, A. Felinger**
Teoria stocastica di cromatografia lineare di adsorbimento su fase eterogenea.
- 100 **D. Melucci, C. Contado, F. Dondi, I. Mingozi, M. Martin, M. Hoyos**
Studio del coefficiente di Soret per il polistirene in decalina mediante frazionamento in campo termico-flusso.
- 101 **P. Reschiglian, A. Zattoni, G. Torsi, R. S. Jurado, D. Melucci**
Analisi dimensionale quantitativa ed assoluta in frazionamento campo-flusso con detector UV-VIS. Applicazione a campioni di
- 102 **R. Udisti, M. C. Giacomelli, R. Traversi, A. Gualandi**
Determinazione spettrofluorimetrica di alluminio in campioni di precipitazioni nevose e di aerosol.
- 103 **E. Castellano, S. Vermigli, V. Celestini, R. Udisti, G. Piccardi**
Ottimizzazione di metodologie analitiche per analisi discontinue e semicontinue di componenti di precipitazioni atmosferiche.
- 104 **S. Becagli, O. Largiuni, R. Udisti, G. Piccardi**
Significatività di misure in flow analysis di H_2O_2 attraverso variazioni sperimentalmente simulate di gradienti di concentrazione.
- 105 **O. Largiuni, R. Udisti, G. Piccardi**
Formaldeide e perossido d'idrogeno nell'atmosfera e nelle precipitazioni. Equilibrio di ripartizione e solubilità.
- 107 **V. Gianotti, S. Angelino, M. C. Gennaro**
La ruggedness di un metodo RP-HPLC: studi di robustezza e system suitability test per diverse fasi stazionarie.
- 108 **F. Piazza, R. Lelli, A. C. Manetta, P. Simoni, G. Migliorati, A. Roda**
Caratterizzazione analitica di traccianti enzimatici mediante elettrospray-spettrometria di massa.
- 109 **F. Piazza, L. Zambonin, L. Landi, A. Roda**
Analisi ed identificazione mediante elettrospray-spettrometria di massa di fosfolipidi e loro prodotti di perossidazione.
- 110 **G. Ardito, G. Badino, D. Gastaldi, A. Lepora, M. Orsi, G. Ostacoli, V. Zelano**
Uso della Brassica Oleracea nel biomonitoraggio attivo degli idrocarburi policiclici aromatici (PAH) da traffico veicolare.
- 112 **E. Scarano, E. Bottari, M. R. Festa, M. Mantarro, G. E. Pellegrini**
Sistemi analitici avanzati per studi di processi di biodegradazione in acque di scarico.
- 114 **S. Materazzi, R. Curini, A. Gentili, G. D'Ascenzo, F. Burragato**
Tecniche termoanalitiche applicate ad analisi forense: distinzione tra avorio di elefante o mammuth.

- 115 **R. Giovannetti, V. Bartocci, S. Ferraro, A. M. Quaranta**
Determinazione delle costanti di formazione di alcuni complessi metallici della coproporfirina-1 mediante RP-HPLC. Valutazione della loro stabilità fotochimica mediante misure cinetiche e fluorimetriche.
- 117 **R. Giovannetti, V. Bartocci, P. Passamonti, M. Malavolta**
Evidenze cinetiche nei meccanismi delle reazioni tra coproporfirina-1 e alcuni ioni metallici. Determinazione catalitica di tracce di Hg(II), Cd(II) e Pb(II).
- 119 **F. Mangani, L. Lattanzi, M. Maione**
Pre-concentrazione ed analisi GC-MS dei CFC e dei loro sostituti (HCFC, HFC) in campioni di aria provenienti da aree remote.
- 120 **T. Cecchi, S. Ferraro, P. Passamonti, U. Biader Ceipidor, F. Pucciarelli**
Ritenzione di composti neutri nella cromatografia di interazione ionica.
- 121 **A. Cappiello, G. Famiglini, M. Careri, P. Lombardi, C. Mucchino**
LC/MS Analysis of phenolic acids using a capillary-scale particle beam interface.
- 122 **M. Giorgetti, M. Berrettoni, I. Ascone, S. Zamponi, P. Conti, R. Marassi**
Caratterizzazione della riduzione del $Br_2Co(DO)(DOH)_{pn}$ con metodi spettroelettrochimici.
- 123 **L. Zoccolillo, L. Amendola, D. Mencarelli, A. Sbrilli**
Idrocarburi clorurati volatili in neve di aree remote. Determinazione a livello di ng/Kg mediante PTI-GC-MS.
- 125 **R. I. T. Cataldi, G. E. De Benedetto**
Miglioramento della stabilità di film inorganici elettrosintetizzati mediante condizionamento elettrochimico in rutenio(III).
- 127 **C. Dossi, S. Recchia, A. Pozzi, A. Fusi, M. Guidotti**
Sviluppo hardware e software di un titolatore computerizzato a basso costo per misure automatizzate dello ione cloruro in materiali avanzati e reazioni catalitiche.
- 129 **P. Benetti, S. De Gregori**
Assorbimento atomico del litio in celletta di grafite utilizzando un laser a semiconduttore come sorgente di luce.
- 130 **P. Pasini, M. Musiani, M. Baraldini, G. Aicardi, M. Lotierzo, C. Russo, M. Guardigli, A. Roda**
Analisi d'immagine con rivelazione chemiluminescente come strumento analitico per lo studio di reazioni biospecifiche.
- 132 **P. Pasini, F. Piazza, M. Baraldini, L. Zambonin, S. Fossi, F. Bazzoli, E. Roda, A. Roda**
Sviluppo di un metodo chemiluminescente per la determinazione dell'attività enzimatica dell'ureasi: utilizzo per la diagnosi precoce dell'infezione da Helicobacter Pylori nella mucosa gastrica.
- 133 **M. Mecozzi, E. Pietrantonio, M. Amici**
Ottimizzazione dell'estrazione di tensioattivi cationici dai sedimenti marini e loro determinazione spettrofotometrica con il metodo al metil arancio.
- 134 **E. Gallucci, P. Marziali**
Bonifica di un sito contaminato (Esperienza di un laboratorio chimico su campo).

11.26.2020

12. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference* - 12.06.2020 - 16.06.2020 - 17.06.2020

13. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

14. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

15. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

16. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

17. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

18. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

19. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

20. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

21. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

22. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

23. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

24. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

25. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

26. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

27. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

28. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

Conferenze Plenarie

29. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

30. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

31. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

32. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

33. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

34. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

35. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

36. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

37. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

38. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

39. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

40. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

41. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

42. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

43. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

44. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

45. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

46. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

47. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

48. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

49. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

50. Conferenza di Laurea / *Final Degree Conference*

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

... di ...

INVESTIGAZIONE STRUTTURALE DI SUPERFICIE CON SPETTROSCOPIA STM E DIFFUSIONE DI ELETTRONI

M. De Crescenzi

Dipartimento di Matematica e Fisica, Istituto Nazionale di Fisica della Materia (INFM), Università di Camerino, 62032 Camerino (MC), Italy

La spettroscopia STM (scanning tunneling microscopy) rappresenta il piu' eccitante sviluppo per l'indagine strutturale locale delle superfici e dei materiali. Una tipica immagine STM include la diretta misura ed osservazione della geometria di una superficie, della sua ricostruzione, degli steps, dei difetti e della densita' locale degli stati pieni e vuoti vicino al livello di Fermi [1].⁴²

In questi ultimi anni particolare attenzione e' stata devota allo studio quantitativo delle interazioni superficie-chemisorbato per descrivere in dettaglio i processi di chemisorbimento, di attaccamento delle molecole e delle fasi di formazione dei composti come idruri, carburi ed ossidi. Parte della comunicazione sara' dedicata alla presentazione di recenti risultati STM ottenuti in questa direzione.

Comunque, nonostante i formidabili risultati ottenuti, la tecnica STM riesce a misurare solo il primo strato esterno di un materiale e la maggior parte delle molecole chemisorbite non e' individualmente distinguibile [2].

Cosicche' rimangono sempre necessarie addizionali tecniche strutturali locali per arrivare a dare una piu' ampia e dettagliata informazione e per completare la investigazione a lungo e corto raggio delle superfici pulite e chemisorbite.

In questa comunicazione saranno mostrate investigazioni della superficie del Silicio orientato (111) e (100) paragonando i dati STM con quelli ottenuto con la tecnica della diffusione degli elettroni in geometria di retrodiffusione. Diverse energie cinetiche degli elettroni sono state utilizzate.

Abbiamo usato la tecnica XPD (x-ray photoelectron spectroscopy) dai livelli di core del Si and Ge per investigare la struttura cristallina di 3 ML (mono-layers) di Ge cresciuto epitassialmente da MBE (epitassia di fasci molecolari) sul Si(100) [3]. Questo e' stato fatto per misurare direttamente la distorsione tetragonale ed il modo di crescita pseudomorfa. Evidenza di un' interdiffusione che avviene all'interfaccia e' stata trovata per mezzo della diretta osservazione del comportamento angolare delle intensita' degli elettroni emessi in regime di alta energia cinetica ($E_k \geq 1000$ eV).

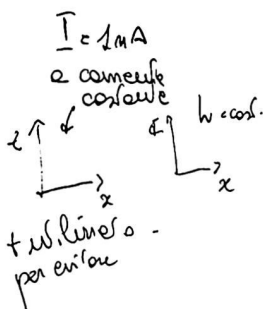
- 1) *Scanning Tunneling Microscopy*, edited by J.Stroschio and W.J.Kaiser, (Methods of Experimental Physics, Vol.27, Academic Press Inc., Boston, 1993).
- 2) Ph.Avouris and R.Wolkow, Phys.Rev.B 39, 5091 (1989); J.Yoshinobu, D. Fukushi, E.Nomura and M.Aono, Phys. Rev.B 46, 9520 (1992).
- 3) R.Gunnella, P.Castrucci, N.Pinto, I.davoli, D.Sebilleau, M.De Crescenzi, Phys.Rev.B 54, 8882 (1996).

* informazioni sul legame chimico

AFM → misura utile

superconduttori → ossidazioni b. → manipolazione molecolare

in fase solida Topografia / chimica / spettroscopica



$$I = Ve^{-A/\sqrt{E}}$$

polimeri / fibre / insieme di d →

S → distorsione punto-molecolare

positive → catalisi reatt.

negative → gas ionospic oltre legame

REALIZZAZIONE DI UN SISTEMA DI ACQUISIZIONE DATI IN RETE IN UN LABORATORIO DI CHIMICA ANALITICA

A. Mangia, G. Mori, C. Mucchino

*Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica
Università degli Studi di Parma, v.le delle Scienze, 43100 Parma*

L'evoluzione del moderno laboratorio di chimica analitica porta a trattare un numero sempre crescente di dati, dalla loro acquisizione alla generazione del rapporto finale di analisi, nel rispetto di stretti criteri di qualità fissati dalle normative e dalle buone pratiche del laboratorio (GLP). La risposta a questo tipo di esigenza è la stretta integrazione delle varie apparecchiature di laboratorio e la loro gestione unitaria in una rete dati, in un sistema aperto, espandibile e modulare. I sistemi proprietari disponibili attualmente sul mercato sono in genere costruiti per gestire al meglio i propri strumenti, spesso solo quelli delle ultime generazioni, e sono generalmente poco flessibili, utilizzando formati dati proprietari e programmi di conversione obsoleti rispetto al software di trattamento dei dati disponibile commercialmente. La gestione unitaria di apparecchiature eterogenee, alcune perfettamente funzionanti ma prive di adeguate uscite dati per motivi di età dello strumento, risulta pertanto un problema estremamente sentito e di attualità nel laboratorio.

Scopo del presente lavoro è presentare un sistema di acquisizione dati in rete basato su hardware disponibile commercialmente e ampiamente «supportato» dal produttore e software ad architettura aperta, privo di chiavi o codici per il funzionamento. Il sistema realizzato è modulare ed espandibile, è stato prodotto tramite il software LabView in collaborazione con una software-house ed è basato su un modello multi-client / multi-server realizzato su protocollo TCP/IP (NetBios over TCP/IP). Quest'ultima caratteristica lo rende particolarmente idoneo all'utilizzo in ambiente scientifico (rete GARR) essendo perfettamente compatibile con l'utilizzo di routers. L'acquisizione avviene tramite il classico sviluppo di «metodi» e «sequenze», completamente trasparenti all'utente, che consentono una notevole facilità d'uso e una buona flessibilità. La sicurezza, implementata su due livelli, uno interno al programma, che utilizza il login alla rete e l'altro basato sull'utilizzo del file system NTFS, proprio del sistema operativo Windows NT, è organizzata sul modello «user» e «manager»; in ogni caso un utilizzatore non può interferire con il lavoro di un altro collega. Il trasferimento dei dati grezzi e la loro archiviazione sul server di rete, che può essere indipendente e distinto dai servers di acquisizione, avviene in formato net-CDF originariamente sviluppato all'Università del Colorado (Boulder, CO, USA) e di pubblico dominio. Un sottosistema di net-CDF, chiamato ANDI protocols, è stato adottato dalla Associazione per gli strumenti analitici (AIA) e quindi la compatibilità con la maggior parte del software esistente nel settore è stata salvaguardata. Il trattamento dei dati avviene tramite moduli software commerciali che contengono le routines di conversione del formato. Il sistema è stato collaudato su servers con sistema operativo Win NT, Win 95 e clients Win NT, Win 95, WFW 3.11 ed è inoltre in grado di archiviare dati provenienti da software basato su IBM OS/2 e UNIX.

APPLICAZIONI DELLA TOTAL REFLECTION X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY PER L'ANALISI DI ELEMENTI IN TRACCE.

Roberto Alfonsetti

Texas Instruments Italy S.p.A Materials Characterization Section

Per l'applicazione della Total Reflection X-Ray Fluorescence Spectrometry (TXRF) all'analisi di tracce di elementi sono sfruttate due principali caratteristiche fisiche: la alta riflettività di superfici "piatte" e la bassa penetrazione della radiazione primaria incidente. Tutto ciò permette da un lato l'applicazione della TXRF all'analisi chimica (liquidi) di tracce di elementi (0.01 ppb) dall'altro l'analisi delle superfici. Nel caso dell'analisi di tracce di elementi in liquidi il campione da analizzare è preparato "su" un substrato altamente riflettente come residuo di piccole quantità mediante evaporazione dalla soluzione. Il limite di rilevazione strumentale ottenibile da apparati commerciali è di pochi ng/ml ma a questo proposito diventa di fondamentale importanza la standardizzazione interna che permette poi una semplice quantificazione degli elementi rilevati. A livello superficiale, nel caso di impurità metalliche su wafer di silicio, si possono ottenere dei limiti di rilevazione inferiori a 10^{10} atomi/cm². Inoltre è possibile, mediante la TXRF, l'analisi di strutture a strati (film sottili) come spessori dei film, composizione e densità, studiando l'andamento dell'intensità di fluorescenza in funzione dell'angolo di incidenza della radiazione primaria.

NOVEL CHEMO – AND BIOSENSORS FOR BIOTECHNOLOGICAL, MEDICAL, AND ENVIRONMENTAL APPLICATIONS

Karl Cammann

Chair of Analytical Chemistry

Institute for Chemical and Biochemical Sensor Research (ICB)

University of Muenster

Germany

Problem solving with analytical chemistry is especially important if dynamic processes have to be followed or controlled. In those instances the sensor response must be shorter than the time constant of the changing analyte concentration. Sensors can fulfill this requirement since ideally they do not need an elaborate sample preparation. Without sensors any automation will be non-intelligent.

Analytical chemo- and biosensors are well developed and examples of new micro ISE and BOD sensors developed in the ICB are presented, but the marketing of those more or less smart devices lags their development in research laboratories. The market asks more or less for fully automated sensor systems with self calibration, in-time quality control, reliability and robustness. Although micro-machining offers the advantages of cheaply mass producible sensors or μ -TAS devices the necessary production numbers to reach these goals are still lacking.

Under these considerations recent developments of less high-tech based sensors are presented. Examples are given for a novel "printed paper" based technology for potentiometric and amperometric chemo- and biosensors. Those low-tech sensors are well suited for medical applications, especially for point-of-care cases where an easily to produce multi-analyte cartridge can improve the speed of clinical analysis. However longer use of miniaturized electrochemical sensors are restricted by the limitations given by the reference electrode in so far that any miniaturized salt bridge also reduces its working life.

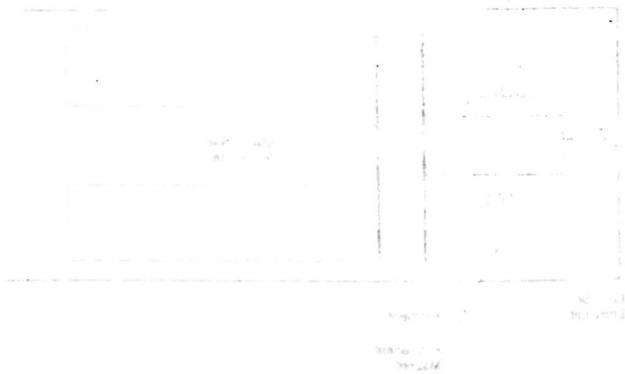
Based on a simple conductance measurement principle a novel class of ion-selective micro-sensors for alkaline ions, calcium and lead ions without the need for any reference electrode are demonstrated with their characteristic features. They are based on ion-selective thin films on a simple interdigital electrode structure of about 3x3 mm.

The similar principle using a thin polymer membranes with an organic salt resulted also in a novel class of gas sensors with a wide range for selectivity adjustments building an "electronic nose" with lesser and cheaper sensors. The identification of different glues and BETX components in the ppm range are shown.

Finally a new optical immuno-sensing instrument with one-way plastic biosensor chips for medical and environmental application will be shown and characterized. It is based on the principle of evanescent field fluorescence and needs no washing steps nor any sample preparation. In principle any ELISA method can be performed by this novel technique giving the result in about 15 minutes.

All sensor systems shown in the paper are less costly than most on the market however own better analytical performances (sensitivity, dynamic range, batch calibration, etc.) but their market introduction is still a problem.

Comunicazioni Orali



SVILUPPO DI UNO SPETTROMETRO DI MASSA QUADRUPOLE CON SORGENTE IONICA DI TIPO "ENCLOSED" PER MISURE TERMOCHIMICHE ED AMBIENTALI.

Carlo DOSSI, Achille FUSI, Sandro RECCHIA, Vladimiro DAL SANTO, Rinaldo PSARO[¶], Massimiliano RUGO[§] e Gianni AUSENDA[§]

Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica e Analitica, e [¶] Centro CNR, Via Venezian, 21 MILANO e

[§]ETS Elettronica, P.zza Roma 11, Zibido San Giacomo (MI)

Grazie ai recenti sviluppi nell'elettronica e nei computer, si sta assistendo ad un crescente utilizzo degli spettrometri di massa quadrupolari a basso costo per analisi ambientali automatizzate e come rivelatori addizionali in accoppiamento con altre tecniche analitiche.

Per analisi di effluenti gassosi a pressioni uguali o superiori a quella atmosferica, le classiche sorgenti ioniche ad impatto elettronico di tipo "open" non sono ottimali sia in termini di sensibilità che per la facilità di contaminazione. Abbiamo perciò sviluppato un nuovo spettrometro di massa quadrupolare (LEDAMASS Satellite, 0-200 amu) dotato di una sorgente ionica di tipo "enclosed". In questa sorgente il campione gassoso viene ionizzato all'interno di una camera separata dal resto della sorgente, mantenuta ad una pressione di circa 10^{-4} mbar ed interfacciata all'ambiente esterno mediante un capillare riscaldato a pompaggio differenziale (Fig.1). In tal modo si ha un notevole miglioramento della sensibilità strumentale, grazie alla possibilità di lavorare a pressioni più elevate rispetto a quelle delle sorgenti convenzionali e ad una minore facilità di contaminazione sia della sorgente ionica che del filtro a quadrupolo.

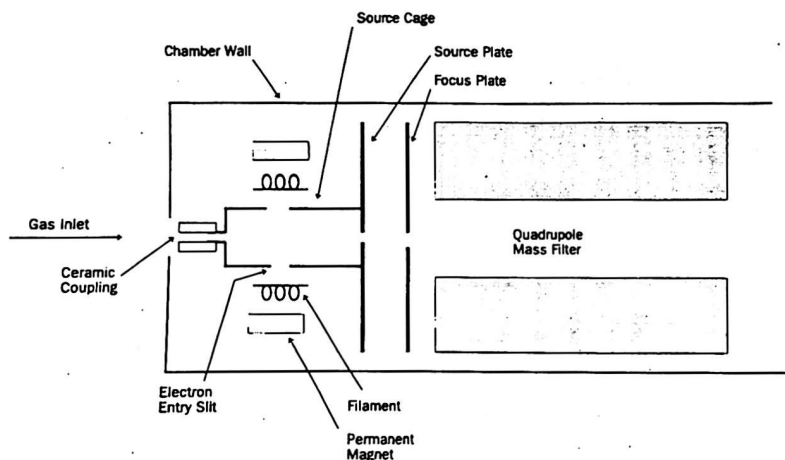


Figura 1. Disegno schematico della sorgente ionica di tipo "enclosed"

Il quadrupolo ed il gruppo di pompaggio sono stati alloggiati su un apposito carrello, unitamente al PC, realizzando così un sistema mobile e compatto, per consentirne anche l'utilizzo sul campo.

Lo strumento è stato inizialmente ottimizzato per l'analisi di microinquinanti volatili ambientali (VOC) in ambiente, mostrando bassi limiti di rivelabilità per molti composti organici volatili ed una elevata immunità alla contaminazione (Tabella 1)

Tabella 1. Dati di sensibilità relativa e concentrazione minima rivelabile per alcuni VOC.

Composto	Sensibilità relative ¹ [mbar ⁻¹]	Pressione minima rivelabile [mbar]	Concentrazione minima rivelabile [ppm]
Benzene	0.374	5.08×10^{-13}	0.136
Toluene	0.311	7.01×10^{-13}	0.225
Diclorometano	0.923	5.52×10^{-13}	5.98×10^{-2}
Acetone	0.830	6.52×10^{-13}	7.855×10^{-2}
Tetracloruro di carbonio	0.120	3.52×10^{-13}	0.293

¹ Riferita ad Argon come standard interno.

Si è successivamente messo a punto anche l'interfacciamento del quadrupolo ad una cella di reazione ad alta pressione per misure DRIFT in-situ [1]. L'accoppiamento DRIFT/QMS è risultato ottimale anche a pressioni fino a 3-5 bar, consentendo in tal modo di studiare reazioni catalitiche all'interno dello spettrofotometro FTIR.

- 1) C. Dossi, A. Fusi, G. Molteni, S. Recchia and R. Psaro, *Analyst*, **122** 279-282 (1997)

PRECONCENTRAZIONE DI METALLO-IONI SU RESINE COMPLESSANTI: CONFRONTO FRA IL METODO IN BATCH E IN COLONNA

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

*Dipartimento di Chimica Generale, Università di Pavia
*Istituto di Scienze Mat., Fis., Chim., Università di Milano
e-mail pesaven@ipv36.unipv.it*

Le resine chelanti sono ampiamente utilizzate per la separazione di metallo-ioni da matrici complesse, ed eventualmente per la loro preconcentrazione. Questo procedimento permette di eliminare molte possibili interferenze, e di abbassare i limiti di detezione. Le tecniche più utilizzate sono quella in batch, in cui la resina viene posta direttamente in sospensione nella soluzione in un contenitore sotto agitazione, e quella in colonna, in cui la soluzione viene fatta fluire in una colonna contenente la resina impaccata. Ai fini di valutare l'efficienza della preconcentrazione, nel primo caso interessa poter stimare la frazione di metallo ione adsorbita sulla resina nelle condizioni considerate (f). E' stato precedentemente dimostrato (1) che per le resine complessanti vale la seguente relazione:

$$f = 1 / (1 + \alpha_M(I) V / K^* w)$$

dove V è il volume di soluzione, w la quantità di resina, $\alpha_M(I)$ è il coefficiente di reazione collaterale del metallo ione, e K^* è il rapporto fra la concentrazione di metallo ione adsorbito nella resina e quello libero in soluzione. Esso può essere valutato se sono noti gli equilibri di distribuzione del metallo ione sulla resina. Nel caso di alcune resine complessanti ampiamente utilizzate per l'adsorbimento di metallo ioni da soluzioni complesse questi equilibri sono noti in quanto sono stati da noi precedentemente investigati (1, 2).

Nel caso delle separazioni in colonna interessa poter determinare il volume di breakthrough, dato che l'efficienza del recupero dipende essenzialmente del fatto che questo venga o meno ecceduto nella fase di adsorbimento. Si è potuto dimostrare (3) che il volume corrispondente al punto di flesso della curva di breakthrough (V_f) è dato da

$$V_f = V_m + K^* w / \alpha_{M(I)}$$

Per sistemi in cui K^* è noto, si può valutare $\alpha_{M(I)}$ tanto determinando f con la tecnica in batch, quanto V_f con la tecnica in colonna. Nel caso in cui il metallo sia presente in una sola specie il valore ottenuto dovrebbe essere uguale nei due casi, e questo è stato verificato per soluzioni sintetiche di rame(II) contenenti leganti che formano complessi con $\alpha_{M(I)}$ noto (3), e in eccesso rispetto al metallo, e per alcuni campioni di acque dolci naturali. In altri campioni naturali invece i risultati ottenuti con i due procedimenti non erano in accordo. Questo viene discusso considerando la presenza eventuale di più specie con diversi valori di $\alpha_{M(I)}$, ipotesi non irragionevole dato la grande varietà di leganti nelle acque naturali (4). Esse possono essere messe in rilievo con misure in batch utilizzando resine con diversa forza adsorbente (diverso valore di K^*), quali la resina imminodiacetica Chelex 100 e la carbossilica Amberlite CG 50. Ad esempio nel caso di un'acqua potabile contenente 30 ppb di rame erano state trovate forme chimiche con $\alpha_{M(I)} = 5 \cdot 10^{13}$ (pH=7.6) utilizzando una resina fortemente adsorbente (Chelex 100). Questo corrisponde a un volume di breakthrough su una colonna di Chelex 100 (0.2 g, $K^* = 1.5 \cdot 10^{16}$) di 74 mL. Invece eluendo 760 mL si trova una concentrazione costante nell'eluato di 5 ppb di rame. Evidentemente la specie con $\alpha_{M(I)} = 5 \cdot 10^{13}$ è presente a questa concentrazione, mentre il resto del rame è presente come specie con coefficiente di reazione collaterale molto minore, per le quali il volume di breakthrough non è stato raggiunto. In effetti utilizzando una resina meno fortemente adsorbente, cioè Amberlite CG 50, si trova con procedimento in batch una specie con $\alpha_{M(I)} = 5 \cdot 10^6$. Il volume di breakthrough relativo a questa specie è $1.2 \cdot 10^{10}$ mL, che non è stato ovviamente raggiunto.

- 1) M. Pesavento, R. Biesuz, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 3558.
- 2) M. Pesavento, R. Biesuz, *Anal. Chim. Acta*, 346 (1997) 381.
- 3) M. Pesavento, E. Baldini, A. Pozzi, XIII Congresso Nazionale di Chimica Analitica, S. Martino al Cimino (Vt), 7-11 settembre 1997, p.130.
- 4) C. Van den Berg, J. Donat, *Anal. Chim. Acta*, 257 (1992) 281

**DETERMINAZIONE DI TRIAZINE IN CAMPIONI DI TERRENO E SEDIMENTI MEDIANTE
MICROESTRAZIONE IN FASE SOLIDA-GASCROMATOLOGRAFIA/SPETTROMETRIA DI
MASSA (SPME-GC/MS).**

C.G. Zambonin^a, F. Catucci^b and F. Palmisano^b

^a *Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Via N. Sauro 85, 85100 - POTENZA, Italy*

^b *Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari, Via Orabona 4, 70126 - BARI, Italy*

La microestrazione in fase solida (SPME), introdotta da Pawliszyn [1, 2], rappresenta un promettente metodo di campionamento per la determinazione di composti organici polari e non-polari, volatili e semi-volatili [3-8] mediante tecniche LC e GC. Infatti, la SPME consente l'estrazione e la simultanea preconcentrazione degli analiti direttamente dalla matrice del campione. Inoltre, l'impiego della SPME in luogo delle tecniche di estrazione convenzionali elimina svantaggi quali "plugging" delle cartucce (SPE) e uso di solventi tossici (LLE).

Le triazine sono tra gli erbicidi più utilizzati in Europa [9, 10]. La loro determinazione in suolo ha una notevole importanza per la loro tossicità e persistenza. A causa della loro solubilità in acqua esse raggiungono facilmente anche le falde acquifere.

Il presente lavoro descrive un metodo SPME-GC/MS per la determinazione simultanea di sei triazine rappresentative (propazina, terbutilazina, sebutilazina, ametrina, prometrina, terbutrina) in campioni di suolo e sedimenti con diverso contenuto di sostanza organica. I limiti di rilevanza raggiunti in SIR sono nell'ordine delle ppb. E' stato inoltre provato come la SPME possa essere convenientemente e utilmente impiegata per stimare i valori di K_d (distribution coefficient) e K_{oc} (soil adsorption coefficient) e per valutare la "leachability" delle triazine nei campioni di suolo considerati.

- 1) C.L. Arthur, J. Pawliszyn, *Anal. Chem.*, 62 (1990) 2145.
- 2) C.L. Arthur, L.M. Killam, K.D. Bucholz, J. Pawliszyn, J.R. Berg, *Anal. Chem.*, 64 (1992) 1960.
- 3) C.L. Potter, K. Pratt, S. Motlagh, J. Pawliszyn, *J. High Resol. Chromatogr.*, 15 (1992) 741.
- 4) L. Sarna, G. Webster, M. Friesen-Fischer, R. Sri Ranjan, *J. Chrom.*, 667 (1994) 201.
- 5) C.L. Arthur, L. Killiam, S. Motlagh, J. Pawliszyn, *Environ. Sci. Technol.* 26 (1992) 979.
- 6) D. Page, G. Lacroix, *J. Chrom.*, 648 (1993) 199.
- 7) C.G. Zambonin, T. Nilsson, D. Baglio, S. Facchetti III Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, 24-26 Settembre 1997, Gallipoli (LE), Italia Volume dei riassunti pag. 179.
- 8) T. Nilsson, D. Baglio, I. Galdo Miguez, C.G. Zambonin, S. Facchetti III Congresso Nazionale di Chimica Ambientale, 24-26 Settembre 1997, Gallipoli (LE), Italia Volume dei riassunti pag. 53.
- 9) K. A. Hassal, *The Biochemistry and Uses of Pesticides*, MacMillan, London, 1990.
- 10) U.S. EPA, *Drinking Water Health Advisory: Pesticides*, Lewis Publishers, Chelsea 1991.

SVILUPPO E CONTROLLO DI UN METODO SPETTROMETRICO DI ASSORBIMENTO ATOMICO PER LA DETERMINAZIONE DEL RUTENIO IN CATALIZZATORI

Marco Taddia, Paolo Sternini

Università di Bologna, Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Via Selmi 2, 40126 Bologna

Il rutenio ed altri metalli nobili, precipitati sulla superficie di supporti quali il carbone attivo e l'allumina, vengono impiegati industrialmente come catalizzatori di idrogenazione e deidrogenazione. Il controllo analitico del tenore in metallo può essere richiesto dall'acquirente a causa del prezzo, particolarmente elevato, di questi catalizzatori. Il metodo deve essere accurato e preciso, perchè l'importo da corrispondere al fornitore dipende dalla concentrazione effettiva del metallo. Nel caso in esame, il campione era costituito da rutenio su carbone attivo, con una concentrazione nominale di rutenio intorno al 5% m/m. Il metallo era parzialmente ossidato ed era presente anche allumina come componente minore; sia il tenore in ossidi di rutenio, che quello in allumina, non erano dichiarati. Tenendo conto delle prestazioni richieste e della concentrazione del determinando, la tecnica scelta è stata la spettrometria di assorbimento atomico in fiamma (FAAS). Come tecnica di controllo, si è fatto ricorso alla spettrometria di assorbimento molecolare nell'UV-vis. A questo scopo si è utilizzato un metodo di letteratura [1] basato sulla misurazione dell'assorbanza dello ione rutenato (RuO_4^{2-}), forma predominante del rutenio nella soluzione proveniente dall'attacco del campione.

Il metodo FAAS è stato inizialmente messo a punto per un catalizzatore commerciale da laboratorio, di composizione simile a quello industriale, ma privo di allumina, riservandosi di affrontare l'eventuale interferenza dell'alluminio prima di analizzare quest'ultimo.

Le fasi critiche del procedimento sono risultate le seguenti: (i) attacco del campione; (ii) stabilizzazione delle soluzioni da nebulizzare in fiamma. Per quanto riguarda la prima, il metodo prevede un incenerimento preliminare del carbone mediante riscaldamento graduale da 200°C a 450°C, seguito da fusione a 450°C con una miscela di idrossido e nitrato di potassio. Per quanto riguarda la seconda, si trattava di mantenere in soluzione il rutenio nel passaggio dall'ambiente fortemente alcalino, conseguente alla fusione, a quello acido richiesto dalla misurazione FAAS. Ciò è stato ottenuto convertendo il rutenato in esaclororutenato (RuCl_6^{2-}) [2].

Ai fini dell'applicazione all'analisi del catalizzatore da laboratorio, anche il metodo UV-vis ha richiesto alcune modifiche. Innanzitutto, una volta riscontrata l'instabilità delle soluzioni da sottoporre a misurazione, si è regolata opportunamente in esse la concentrazione di idrossido e persolfato di potassio. Inoltre, non potendo escludere la presenza del perrutenato (RuO_4^-), la determinazione è stata effettuata a 415 nm, punto isosbastico delle miscele rutenato-perrutenato [3]. Determinando il rutenio nel catalizzatore da laboratorio si è ottenuta, con il metodo FAAS, una deviazione standard relativa dell'1,1% ($n=5$), mentre con il metodo UV-vis essa è risultata del 2,2% ($n=5$). Il confronto delle varianze (test F) non ha evidenziato una differenza di precisione statisticamente significativa ($P=0.05$). Anche il confronto fra i valori medi delle concentrazioni (test t) ha dato lo stesso responso ($P=0.05$).

E' attualmente in corso il trasferimento del metodo all'analisi del catalizzatore industriale. I primi risultati fanno ritenere che l'operazione possa avvenire direttamente, senza apportare al metodo modifiche sostanziali. Assai diverso è il caso del rutenio depositato su allumina, per il quale si profila la necessità di un apposito studio.

- 1) Marczenko, Z., Balcerzak, M., Kus, S., *Talanta*, 1980, 27, 1087
- 2) Seddon, E. A., Seddon, K. R., *The Chemistry of Ruthenium*, Elsevier, New York, 1984, p. 94
- 3) Woodhead, J. L., Fletcher, J. M., *J. Chem. Soc.*, 1961, 6, 5039

ESTRAZIONE SEQUENZIALE DI METALLI DA CAMPIONI DI CENERI VOLANTI

C. Brunori¹, C. Cremisini¹, Z. Mester² e R. Morabito¹.

¹Dipartimento Ambiente, ENEA, C.R.E. Casaccia, Via Anguillarese 31, 00060 Rome, Italia

²Dipartimento di Chimica, Università di Orticoltura e di Industria Alimentare, 1114 Budapest, Villanyi 29, Ungheria

Le ceneri volanti sono uno dei principali residui dei processi di incenerimento che avvengono in impianti di combustione o negli inceneritori municipali e rappresentano un concentrato di molti elementi, in molti casi dannosi per la salute dell'ambiente, che non vengono volatilizzati durante i processi di combustione. Per poter valutare la possibilità e le condizioni per un loro smaltimento o eventuale riutilizzo, ad esempio come materiale da costruzione, non è sufficiente conoscere il loro contenuto totale di metalli pesanti ma occorre avere informazioni sull'effettivo rilascio dei metalli dalle ceneri. E' quindi di notevole interesse la conoscenza della frazione disponibile di ciascun elemento contenuto per poter determinare il grado di pericolosità delle ceneri e stabilire il reale rischio ambientale legato al loro utilizzo.

L'applicazione delle procedure di estrazione sequenziale può fornire un valido strumento per acquisire informazioni al fine di valutare modalità e quantità di rilascio di metalli nell'ambiente, dalla matrice considerata, al variare delle condizioni chimico-fisiche del comparto ambientale studiato.

Numerose sono le procedure di questo tipo proposte in letteratura; tali procedure si differenziano tra loro per numero di estrazioni, tempi di estrazione, tipi di reattivi e loro concentrazioni, rapporti solido-liquido, etc. Le matrici a cui queste procedure sono state applicate sono essenzialmente suoli e sedimenti. La varietà e diversità di queste procedure, insieme alla mancanza di materiali di riferimento certificati, ha determinato la produzione di dati non confrontabili tra di loro da una parte, e l'impossibilità di verificarne l'attendibilità dall'altra. Conseguentemente l'Unione Europea, tramite il Programma "Standards, Measurements and Testing", ha proposto, al termine di un Progetto che ha coinvolto numerosi laboratori esperti in questo campo, una procedura analitica comune per i sedimenti basata su tre "steps", che consente l'individuazione dei metalli legati alla frazione "scambiabile/carbonatica", "facilmente riducibile" e "organica/sulfidica", rispettivamente.

In questo lavoro è stata valutata l'applicabilità di tale procedura nel caso di ceneri volanti di differente origine ed il tipo di informazione ricavabile.

Le matrici considerate sono state due materiali di riferimento (non certificati) altamente omogenei di ceneri volanti forniti dal Joint Research Centre di Ispra.

I risultati ottenuti verranno presentati e brevemente discussi.

SPECIAZIONE DI RADIONUCLIDI ANTROPOGENICI (Pu, Am, Cs-137) E NATURALI (U, Th, E K-40) IN UN SEDIMENTO DELLA LAGUNA DI VENEZIA.

D. Desideri^o, S. Degetto, C. Testa^o, F. Guerra^o, M.A. Meli^o, C. Roselli^o*

^o *Istituto di Chimica Generale, Università di Urbino, Piazza Rinascimento 6, 61029 Urbino,*

** ICTIMA-CNR, Padova*

Come è noto il comportamento dei radionuclidi nell'ambiente dipende dalla loro forma chimico-fisica o speciazione. Uno dei metodi migliori per la valutazione della speciazione di un radionuclide in suoli e sedimenti è l'estrazione sequenziale o tecnica di frazionamento. Inoltre, mediante la determinazione nel campione di alcuni importanti elementi stabili, è possibile ricavare utili informazioni sull'associazione geochemica dei diversi radionuclidi.

Nell'ambito di un programma di ricerca concernente la concentrazione e la speciazione di elementi tossici e radiotossici nella laguna di Venezia è stato sviluppato un metodo consistente in sei estrazioni sequenziali per determinare la ripartizione geochemica di radionuclidi naturali (U, Th, ⁴⁰K) e antropogenici (Pu, Am, ¹³⁷Cs) in un campione di sedimento di 40-50 cm di profondità prelevato in un canale della laguna di Venezia.

Per la separazione chimica di ogni singolo radionuclide è stata utilizzata la cromatografia di estrazione con Microtene-TOPO (U, Th), con Microtene-TNOA (Pu) e con Microtene-HDEHP (Am); la resa finale è stata calcolata utilizzando ²³⁶U, ²²⁹Th, ²⁴²Pu e ²⁴³Am come standard interni di resa. Dopo un'elettrodeposizione la misura radiometrica di U, Th, Pu ed Am è stata effettuata per spettrometria alfa. Il ¹³⁷Cs e il ⁴⁰K sono stati determinati per spettrometria gamma.

Le concentrazioni totali nel campione (Bq/kg secco), ottenute per disgregazione completa della matrice mediante mineralizzazione umida e secca, sono risultate: ²³⁹⁺²⁴⁰Pu=1,03±0,07, ²³⁸Pu=0,022±0,005, ²⁴¹Am=0,337±0,027, ¹³⁷Cs=9,78±0,78, ²³⁸U=28,84±1,62, ²³²Th=21,42±1,93, ⁴⁰K=376,05±12,78. Il rapporto medio ²³⁸Pu/²³⁹⁺²⁴⁰Pu (0,02) è indice di una contaminazione dovuta essenzialmente al fall-out da test nucleari.

Per quanto riguarda la speciazione sono state considerate le seguenti frazioni: solubile in acqua, carbonati, ossidi di Fe-Mn, materiale organico, solubile in acidi, residuo. Il Pu (67%) e l'Am (95%) sono presenti soprattutto nella frazione carbonatica; l'U ha una ripartizione più differenziata e circa il 30% ed il 45% si ritrovano rispettivamente nella frazione carbonatica e nel residuo; la maggior parte del Th è presente nel residuo (60%); il ⁴⁰K è presente totalmente nel residuo; infine il ¹³⁷Cs si ritrova principalmente nella frazione solubile in acidi (53%) e nel residuo (47%).

Per avere maggiori informazioni sull'associazione geochemica dei singoli radionuclidi anche alcuni elementi stabili (Fe, Mn, Al, Ti, Ca, Pb, Ba) sono stati determinati nelle diverse frazioni mediante AAS.

- 1) A. Tessier, P.G.C. Campbell and M. Bisson, *Anal. Chem.* 51, 884, 1979.
- 2) M.K. Schulz, W.C. Burnett, K.G.W. Im, J. W. L. Thomas and Zhicho Lin,
- 3) *Radioactivity and Radiochemistry* 7/1, 9, 1996.
- 4) F. Rapin, A. Tessier, P.G.C. Campbell, R. Carignan, *Environ. Sci. Technol.* 20/8, 836, 1986.
- 5) C. Testa, D. Desideri, M.A. Meli, C. Roselli, *J. Rad. Nucl. Chem.*, 194/1, 141, 1995.
- 6) G. Jia, C. Testa, D. Desideri, M.A. Meli, *Analytica Chimica Acta*, 220, 103, 1989.
- 7) G. Jia, C. Testa, D. Desideri, M.A. Meli, *J. Rad. Nucl. Chemistry*, 133/2, 227, 1989.
- 8) G. Jia, C. Testa, D. Desideri, F. Guerra, C. Roselli *J. Rad. Nucl. Chem.* 230/1-2, 21, 1998.

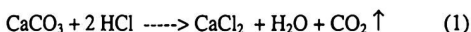
METODO DI NORMALIZZAZIONE MEDIANTE STANDARD INTERNO NELLA DETERMINAZIONE ACCURATA DI CARBONIO ORGANICO IN SEDIMENTI MARINI

V. Di Noto*, , M. Mecozzi** , M. Vidali*

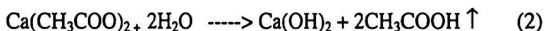
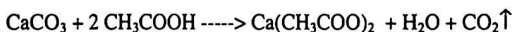
* Dipartimento di Chimica Inorganica Metallorganica ed Analitica, Università di Padova, Via Loredan n.4, 35151 Padova

** Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare, via di Casalotti n.300, 00166 Roma

La determinazione del carbonio organico nei sedimenti marini è un utile parametro per valutare la qualità ambientale dei sedimenti stessi. Studi recenti hanno infatti dimostrato che la biodisponibilità di vari inquinanti è correlata al tenore in carbonio organico di sedimenti. La sostanza umica, il maggior costituente del carbonio organico, può infatti comportarsi da tensioattivo favorendo la solubilizzazione di inquinanti organici ed inorganici che sarebbero normalmente insolubili. Tutte le metodiche analitiche utilizzate (titrimetriche, IR, analisi elementare) hanno in comune il pretrattamento acido del campione per l'allontanamento del carbonio inorganico presente secondo la reazione



oppure nel caso che si impieghi acido acetico



Ogni molecola di CO₂ allontanata è sostituita da una di CaCl₂, ma questa sostituzione causa una variazione non immediatamente misurabile del peso iniziale del sedimento. Inoltre altre variazioni del peso originale del campione avvengono a seguito della decomposizione in ambiente acido di composti organici e/o metallorganici labili di cui i campioni ambientali sono generalmente piuttosto ricchi.

Pertanto la concentrazione di carbonio organico viene calcolata rispetto ad un peso secco che è variato rispetto a quello iniziale e conseguentemente non è possibile stimarne con accuratezza i valori. Infine, a seguito dell'idratazione in ambiente acido, i sedimenti acquistano una consistenza gelatinosa per cui la loro essiccazione prima dell'analisi diviene un processo che richiede anche 5-6 giorni.

In questo lavoro noi ci siamo proposti di sviluppare un metodo per ovviare a tutti questi inconvenienti per rendere così la determinazione del carbonio organico nei sedimenti una misura più accurata. Il metodo si basa sull'individuazione di un metallo che sia presente nel campione sotto forma di composti inorganici ed organici stabili e non labili. Pertanto la sua variazione di concentrazione tra prima e dopo la decarbonatazione sarà dipendente unicamente dall'allontanamento della CO₂ e non dalla decomposizione e/o volatilizzazione di composti labili presenti. Gli elementi rispondenti a questa caratteristica possono pertanto essere utilizzati come fattori di normalizzazione per compensare le variazioni di peso del campione non dovute all'allontanamento di CO₂.

Allo scopo sono stati analizzati per ICP nove metalli Na, Fe, K, Mn, Cu, Cr, P e Zn che sono regolarmente inseriti negli studi di monitoraggio marino. In base ai risultati ottenuti, il Mn è l'elemento più idoneo ad essere impiegato come standard di normalizzazione.

Il metodo da noi proposto ha diversi vantaggi:

- 1) consente stime più accurate di carbonio organico;
- 2) è applicabile a tutte le tecniche di determinazione di carbonio organico in sedimenti;
- 3) evita prolungati tempi di essiccazione dopo il trattamento acido
- 4) per la sua applicazione si utilizzano determinazioni analitiche regolarmente inserite negli studi di monitoraggio ambientale.

DEGRADAZIONE ABIOTICA DI CARBARYL IN PRESENZA DI ANFIFILI.

Alessandra Bianco Prevot, Edmondo Pramauro

Dipartimento di Chimica Analitica. Via P.Giuria 5 - 10125 Torino

Tra gli insetticidi appartenenti alla classe dei carbammati il Carbaryl viene ampiamente utilizzato per la sua rapidità di azione e buona biodegradabilità. Il suo tempo di semivita nei pesci risulta però essere di circa tre mesi ed il suo metabolita primario, l'1-naftolo ha una tossicità maggiore del Carbaryl stesso; è perciò importante eliminarlo dalle acque superficiali.

E' stata scelta per questo scopo la fotocatalisi con biossido di titanio, in cui l'attivazione mediante energia luminosa delle particelle di semiconduttore in sospensione acquosa permette, in ambiente aerato, di generare specie radicaliche in grado di ossidare il substrato organico.

L'applicazione di questa tecnica ad una soluzione acquosa di Carbaryl ne ha determinato la completa degradazione con successiva mineralizzazione del carbonio organico a CO₂.

Nella presente ricerca è stato studiato l'effetto sulla degradazione del Carbaryl di sistemi tensioattivi che possono essere presenti nelle acque da trattare:

- i) a basse concentrazioni, come agenti disperdenti aggiunti nei formulati commerciali di insetticida per facilitarne l'applicazione;
- ii) a concentrazioni elevate, se vengono degradate fasi micellari provenienti da trattamenti di pre-concentrazione e rimozione dell'insetticida dal sistema contaminato (ultrafiltrazione micellare, estrazione micellare).

Durante il processo fotocatalitico i tensioattivi possono sia competere con il substrato per i siti attivi del catalizzatore, degradandosi anch'essi, sia, a concentrazioni superiori alla concentrazione micellare critica (c.m.c.), incorporare il substrato negli aggregati alterando gli equilibri a cui esso partecipa. E' stato in particolare esaminato il loro effetto sulla cinetica e sul cammino di degradazione del Carbaryl.

Sodio dodecilsolfato (SDS), esadeciltrimetilammonio bromuro (HTAB) e polioossietilen(23)dodeciletere (Brij 35) sono stati scelti quali rappresentanti per i tensioattivi anionici, cationici e nonionici, rispettivamente, operando a diverse concentrazioni e a diversi valori di pH. In tutti gli esperimenti effettuati a concentrazione di tensioattivo inferiore alla c.m.c. sono stati osservati profili di degradazione primaria del soluto che seguono cinetiche di pseudo-primo ordine, come in soluzione acquosa non additivata, con effetti di rallentamento più o meno rilevanti nelle diverse condizioni sperimentali. Il superamento della c.m.c ha portato invece a delle vere e proprie interruzioni del processo degradativo, con successiva ripresa a tempi più lunghi. Il profilo cromatografico degli intermedi è risultato pressochè corrispondente a quello osservato in assenza di additivi, permettendo di ipotizzare che il meccanismo degradativo non venga modificato dalla presenza dei tensioattivi. L'aumento del biossido di carbonio prodotto ha confermato la degradazione dei tensioattivi evidenziandone in alcuni casi la completa mineralizzazione.

La presenza di tensioattivi è risultata compatibile con una efficace fotodegradazione del Carbaryl a patto di scegliere opportunamente le condizioni operative e procedendo, quando cinetiche eccessivamente lente lo rendano necessario, ad una diluizione della soluzione.

DETERMINAZIONE DI TENSIOATTIVI NONIONICI ETOSILATI MEDIANTE CROMATOGRAFIA LIQUIDA CON RIVELAZIONE A FLUORESCENZA DOPO DERIVATIZZAZIONE-ESTRAZIONE.

Claudio MINERO, Ezio PELIZZETTI, Valter MAURINO.

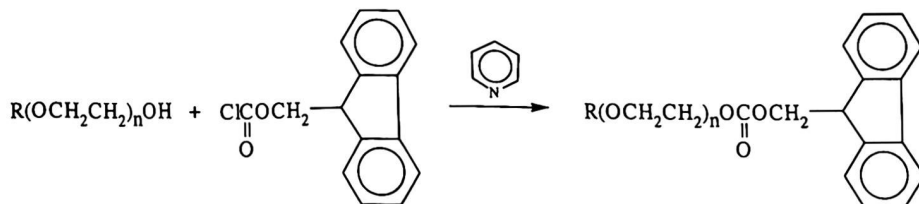
Dipartimento di Chimica Analitica - Università di Torino, via P. Giuria 5, 10125 Torino.

I tensioattivi non ionici sono utilizzati in un ampio spettro di prodotti per la casa e di applicazioni industriali. La classe dei tensioattivi non ionici è costituita principalmente da alchilfenoli ed alcoli etossilati. Il consumo annuale di alcoli etossilati nell'Europa Occidentale e negli Stati Uniti ammonta a circa 7.5×10^5 tonnellate (1). Oltre l'80% dei tensioattivi non ionici utilizzati nei prodotti per la detergenza sono basati su alcoli etossilati aventi catene etossiliche contenenti da 2 a 20 unità monomeriche.

Gli alcoli etossilati lineari e ramificati soddisfano i criteri di biodegradabilità richiesti dalle normative europee. Tuttavia non sono privi di effetti avversi sull'ambiente, in particolare a causa della loro tossicità cronica osservata sugli organismi acquatici a livelli di concentrazione superiori a $100 \mu\text{gL}^{-1}$ (2). Allo scopo di stabilire i potenziali rischi ambientali dei tensioattivi non ionici è necessario conoscere le loro concentrazioni nei vari ecosistemi, in particolare nelle acque naturali. La maggior parte delle procedure analitiche disponibili non sono sufficientemente sensibili e selettive per la determinazione degli alcoli etossilati nelle acque naturali a livelli di concentrazione dell'ordine del microgrammo per litro. Le procedure colorimetriche basate sulla formazione di complessi con metalli alcalini (3, 4, 5) in genere non raggiungono i livelli di sensibilità e selettività richiesti.

Recentemente sono state sviluppate metodologie analitiche basate sulla cromatografia liquida aventi sensibilità e selettività adeguate. A causa della mancanza di cromofori e/o fluorofori nella molecola di alcol etossilato, questi metodi sono basati sulla HPLC accoppiata alla spettrometria di massa (6, 7) o su procedure di derivatizzazione con reagenti che assorbono nell'UV (8, 9, 10). Lo svantaggio di questi metodi è di richiedere o una strumentazione relativamente costosa o delle procedure di estrazione, pulizia del campione e derivatizzazione piuttosto laboriose.

Recentemente è stata sviluppata una procedura di derivatizzazione-estrazione in singolo stadio per la determinazione di composti organici altamente idrofili in matrice acquosa (11, 12, 13). Questa procedura, basata sul cloroformiato di esile, è compatibile con matrici acquose e non richiede uno stadio preliminare di estrazione. Nel presente lavoro è stata sviluppata una modificazione di questa procedura di derivatizzazione-estrazione, adatta per la determinazione di alcoli etossilati. Il cloroformiato di esile è stato sostituito con cloroformiato di fluorenilmetile in modo da ottenere un derivato fluorescente:



I derivati fluorenilici dei tensioattivi non ionici sono stati determinati mediante HPLC con rivelazione a fluorescenza. È stata studiata l'influenza delle varie condizioni sperimentali, come la concentrazione del catalizzatore (piridina) e dell'agente accoppiante (dicicloesilcarbodiimide), il solvente di estrazione ed il pH in modo da ottimizzare le rese di estrazione e derivatizzazione. I limiti di rivelabilità tipici sono dell'ordine di $100 \mu\text{gL}^{-1}$ (campione d'acqua di 1 mL) per il singolo etossimero). Il comportamento cromatografico non standard dei composti etossilati su di una colonna HPLC impaccata con silice funzionalizzata con gruppi difenilici ha permesso di mettere a punto una eluzione a gradiente che evita le interferenze della maggior parte delle altre sostanze organiche coestratte, eliminando la necessità di procedure laboriose di pulizia del campione.

- 1) Holt, M.S.; Mitchell, G.C.; Watkinson J.R. *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer Verlag, Berlin 1992, Vol 3, pp 89-144
- 2) Lewis, M.A. *Water Res.* 1991, 25, 101-113
- 3) Wickbold R., *Tenside, Surfactants, Deterg.* 1972, 9, 173-177
- 4) Boyer S.L., Guin K.F., Kelley R.M., Mausner L.M., Robinson, H.F.; Schmitt, T.M.; Stahl, C.R.; Setkorn E.A. *Environ. Sci. Technol.*, 1976, 10, 1167-1171.
- 5) Favretto, L.; Stancher, B.; Tunis, F. *Analyst*, 1978a, 103, 955-962.
- 6) Evans, K.A.; Dubey, S.T.; Kravetz, L.; Gumulka, J.; Mueller, R.; Stork J.R. *Anal Chem*, 1994, 66, 699-705
- 7) Crescenzi, C.; Di Corcia, A.; Samperi, R.; Marcomini, A. *Anal. Chem.* 1995, 67, 1797-1804.
- 8) Schmitt, T.M.; Allen, M.C.; Brain, D.K.; Guin K.F.; Lemmel, D.E.; Osburn Q.W.; *J. Am. Oil Chem. Soc* 1990, 67, 103-109.
- 9) Zanette, M.; Marcomini, A.; Marchiori, E.; Samperi, R. *J.Chromatogr. A* 1994, 686, 219-224.
- 10) Kiewiet, A.T.; van der Steen, J.M.D.; Parsons, J.R. *Anal. Chem.* 1995, 67, 4409-4415.
- 11) Minero, C., Pelizzetti, E.; Vincenti, M. *Ann. Chim. (Rome)* , 1993, 83, 511-14.
- 12) Minero, C.; Pelizzetti, E.; Vincenti, M.; Lago, S. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1994, 350, 403-409.
- 13) Minero, C.; Pelizzetti, E.; Vincenti, M.; Maurino, V.; Angelino, S. *J. Chromatogr. A* 1998, 793, 307-16.

FORMAZIONE DI ACIDITA' PRIMARIA FORTE NEL PARTICOLATO DA COMBUSTIONE: CAUSE E RIMEDI

P. Primerano,* S. Di Pasquale,* L. Mavilia,^o F. Corigliano*

* Dipartimento di Chimica Industriale, Università di Messina

^o Facoltà di Ingegneria, Università di Reggio Calabria

In relazione ai contenuti molto diversi di acidità primaria forte (APF) riscontrabili nelle ceneri dei combustibili fossili con pari tenore di zolfo, sono state studiate le motivazioni chimiche che stanno alla base della formazione e della presenza di APF nelle ceneri. E' stato rilevato che i fattori piu' importanti sono:

- a) le condizioni della combustione, nella misura in cui esse favoriscono o meno la formazione di SO₃ (eccesso di ossigeno, presenza di catalizzatori idonei, etc.);
- b) la quantità di ossidi basici presenti nella frazione minerale del combustibile in rapporto alla SO₃ prodotta;
- c) la forza basica dei medesimi ossidi.

I contenuti variabili, ma comunque alti, di APF, comuni alle sole ceneri di petrolio,¹ sono spiegati alla luce dei valori modesti dei fattori (b) e (c) e delle condizioni favorevoli per il fattore (a) in questo combustibile.

I rimedi consistono nell'addizione in fiamma di ossidi fortemente basici per aumentare artificialmente i fattori (b) e (c).

- 1) P. Primerano, S. Di Pasquale, L. Mavilia, F. Corigliano, "Sources of strong primary acidity in the atmosphere", *Atm. Environ.* 32(2), 225-230, 1998.

DIMETILSOLFURO, SOLFURO DI CARBONIO E DIMETILSOLFONIOPROPIONATO IN ACQUA SUPERFICIALE DELLA LAGUNA DI VENEZIA: DETERMINAZIONE ED EVOLUZIONE STAGIONALE

A. Gambaro^{1,2}, R. Piazza¹, F. Corami², P. Cescon^{1,2}, G. Scarponi^{1,3}, I. Moret^{1,2}

¹ Dipartimento Scienze Ambientali, Università Ca' Foscari, Venezia

² Centro di Studio sulla Chimica e le Tecnologie per l'Ambiente - CNR, Venezia

³ Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Università di Ancona

Il ciclo dello zolfo è uno dei più pesantemente perturbati dall'attività umana. L'emissione in atmosfera di composti solforati di origine antropica, $2.5 \pm 0.3 \times 10^{12}$ mol S y⁻¹ (1) è dello stesso ordine di grandezza di quella di origine naturale, $1.2 - 2.8 \times 10^{12}$ mol S y⁻¹ (1) che, per il 50%, proviene dagli oceani.

Il dimetilsolfuro (DMS), prodotto principalmente dalla decomposizione enzimatica dell'osmoregolatore dimetilsolfoniopropionato (DMSP) presente nelle cellule di alcune alghe e specie fitoplanctoniche, è il maggior responsabile del flusso di zolfo biogenico trasferito dagli oceani verso l'atmosfera. Recenti studi ne riportano l'implicazione con le piogge acide, la formazione di aerosol e il cambiamento del clima globale (2). Il solfuro di carbonio (CS₂), presente in acqua costiera superficiale, proviene dall'acqua interstiziale del sedimento dove si forma per fermentazione di composti organosolforati (1).

In questa comunicazione viene proposta una metodologia analitica per la determinazione di DMS, DMSP e CS₂ in campioni di acqua superficiale della Laguna di Venezia. Il DMS e il CS₂ vengono determinati da 40 - 100 ml di campione con il metodo del "Purge and Trap" seguito da analisi gascromatografica. I composti solforati volatili vengono inizialmente "strippati" dal campione tal quale con elio (flusso 100 ml/min), intrappolati in una cartuccia Carbotrap 200 (Supelco, Bellafonte, USA) e infine trasferiti alla colonna gascromatografica (capillare, megabore, riempita con un polimero poroso GS-Q, J&W, USA) mediante rapido riscaldamento (300 °C). Il DMSP totale (particellato + disciolto) viene determinato, dopo idrolisi basica del campione (aggiunta di NaOH 5M fino a pH ≈ 13 per 16 ore), come DMS con la metodologia precedentemente descritta. La precisione (DSR%) ottenuta per la determinazione di DMS, CS₂, DMSP è rispettivamente 7%, 6%, 14%. I dati raccolti in un anno di studio (4 stazioni; frequenza di campionamento: 2 prelievi alla settimana; profondità di prelievo: 50 cm con bottiglie in polietilene; conservazione al buio a 4°C; analisi entro 3 ore dal campionamento) mostrano per le acque superficiali della Laguna di Venezia una concentrazione media di 5.7×10^2 ng/l per il DMS, di 2.5×10^1 ng/l per il CS₂ e di 1.42×10^3 ng/l per il DMSP. Gli andamenti temporali delle concentrazioni sono caratteristici per ogni composto e sembrano legati all'origine e all'evoluzione stagionale. L'analisi di questi dati alla luce di quelli ottenuti per alcuni parametri biologici (clorofilla a, conta e identificazione fitoplanctonica), permette di meglio comprendere la relazione tra i composti organici solforati volatili presenti nel sistema acquatico e le specie fitoplanctoniche e di porre le basi per uno studio sistemico del ciclo del DMS in un ambiente complesso come quello lagunare veneziano.

- 1) M.O. Andreae, "Ocean-atmosphere in the global biogeochemical sulfur cycle", *Marine Chemistry*, 30 (1990) pp 1-29
- 2) R.J. Charlson, J.E. Lovelock, M.O. Andreae & S.G. Warren, "Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate" *Nature* vol. 326, 16 april 1987

DETERMINAZIONE DI ELEMENTI IN TRACCE IN ACQUA DI MARE E NEVE POLARE MEDIANTE HR-ICP-MS. VALUTAZIONI AMBIENTALI

C. Barbante^{a,b}, *M. Krakler*^c, *G. Cozzi*^a, *G. Capodaglio*^{a,b}, *G. Scarponi*^{a,d}, *P. Cescon*^{a,b}

a Dipartimento di Scienze Ambientali, Università Ca' Foscari, Venezia

b Centro di Studio sulla Chimica e le Tecnologie per l'Ambiente - C.N.R., Venezia

c Institute for Analytical Chemistry, Karl-Franzes University, Graz, Austria

d Facoltà di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali, Università di Ancona

Sono state studiate le potenzialità della spettrometria di massa a settore magnetico con plasma accoppiato induttivamente (HR-ICP-MS) per la determinazione diretta e simultanea di numerosi elementi a livello di pg/g nelle nevi polari e nell'acqua di mare. In particolare sono state valutate le prestazioni dello strumento relativamente alla sensibilità, all'accuratezza, alla velocità di analisi ed al consumo di campione. Sono stati analizzati numerosi campioni di neve e ghiaccio prelevati in Groenlandia ed in Antartide e nelle Alpi. Per quanto riguarda l'acqua di mare la metodologia è stata testata mediante l'analisi di un campione certificato di acqua di mare oceanica (NASS-4).

È stato impiegato uno spettrometro di massa a settore magnetico con plasma accoppiato induttivamente (ELEMENT, Finnigan MAT) dotato di una spray chamber in quarzo (tipo Scott) e di un nebulizzatore microconcentrico. Lo strumento è stato usato sia in bassa risoluzione ($M/\Delta M = 300$) che in media risoluzione ($M/\Delta M = 3000$) in modo da ottenere la maggior trasmissione ionica e quindi la più elevata sensibilità e qualora necessario, un'adeguata risoluzione per la separazione delle possibili specie interferenti. Per ridurre al minimo i rischi di contaminazione la zona in cui avviene l'introduzione del campione è mantenuta sotto una cappa a flusso laminare (Classe 100).

Le operazioni di lavaggio delle bottiglie, acidificazione dei campioni e preparazione degli standard multi elementari sono state effettuate all'interno di laboratori a contaminazione controllata (Classe 100) ed usando reagenti ultrapuri.

I campioni di neve e ghiaccio sono stati analizzati direttamente, dopo scioglimento ed acidificazione allo 0.5 % con HNO_3 ultrapuro. Data la capacità di analisi multielementare e la bassissima velocità di introduzione del campione ($40 - 80 \mu\text{l min}^{-1}$) è stato necessario impiegare solamente 1 ml di campione. I campioni di acqua di mare sono stati diluiti (1 parte di campione + 4 parti acqua ultrapura), acidificati all'1 % con HNO_3 ultrapuro e successivamente analizzati. Allo scopo di ridurre al minimo la formazione di depositi di NaCl sulla superficie dei coni, particolare cura è stata data all'ottimizzazione degli step di pre-lavaggio e lavaggio con soluzioni di acido ultrapuro a diverse concentrazioni, prima dell'introduzione del campione. Nonostante la diluizione del campione abbia portato ad un livello accettabile il contenuto di solidi disciolti, le concentrazioni di elementi quali il Na, Mg, K, Cl sono tali da poter formare dei composti chimici che possono interferire considerevolmente con gli analiti da determinare. Per tale motivo ed in particolare per gli elementi della prima serie di transizione, è stato necessario lavorare in media risoluzione ($M/\Delta M = 3000$) allo scopo di separare il segnale dell'interferenza da quello dell'analita.

I bassissimi limiti di rilevamento ottenibili sono tali da consentire l'analisi diretta e simultanea degli elementi in tracce nella neve e nei ghiacci polari ed alpini, nonché in acqua di mare, purché dopo opportuna diluizione.

STRUTTURA DEI COMPOSTI UMICI PER L'INDIVIDUAZIONE DI POSSIBILI FONTI DI CARBONIO ORGANICO

N. Calace, B. M. Petronio, M. Capolei, M. Lucchese

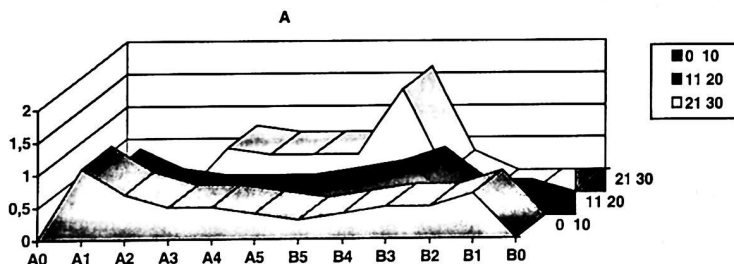
Dipartimento di Chimica, Università di Roma "la Sapienza" piazzale A. Moro 5, 00185 Roma

Le sostanze umiche, miscele eterogenee di macromolecole naturali, sono il prodotto di reazioni chimiche (condensazioni, polimerizzazioni, ossidazioni e riduzioni) a carico di composti a basso peso molecolare, che, in gran parte, sono prodotti di degradazione della lignina e di biopolimeri, quali proteine e carboidrati. Le loro strutture variano quindi con la natura del materiale organico da cui si originano e con il luogo di provenienza. Fino ad ora lo studio e la caratterizzazione delle strutture dei composti umici ha fornito, tra l'altro, importanti informazioni circa la loro origine (terrestre o acquatica) ed i probabili meccanismi di formazione.

In questa nota è riportato lo studio delle strutture dei composti umici isolati dai sedimenti di un lago vulcanico, Martignano, posto ad una cinquantina di Km da Roma. Tale lago, di forma ellittica, ha rive scoscese e lungo le batimetriche dei 15-20 m vi è un'abbondante fioritura di alghe della famiglia delle *caracee*, che possono essere considerate come un buon indicatore nei confronti dell'atrofia lacustre e dell'inquinamento. Del resto il lago si trova in una zona non industrializzata, lontano da centri abitati.

I campioni sono stati prelevati con un corer lungo un transetto (stazioni A₀-A₅ e B₅-B₀); ogni carota di sedimento, lunga trenta centimetri, è stata suddivisa in tre porzioni, ognuna analizzata separatamente.

I dati relativi alla concentrazione degli acidi umici e fulvici lungo il transetto studiato, strato superiore, mostrano che la concentrazione degli acidi fulvici è massima nei punti A₁ e B₁ in corrispondenza della zona ricca di *caracee*, per diminuire gradatamente a mano a mano che ci si allontani dalle rive verso il centro del lago (Fig.1A); andamento contrario mostrano gli acidi umici (Fig.1B) mettendo in evidenza una trasformazione di materia più giovane (acidi fulvici) in materiale più umificato (acidi umici) con l'allontanarsi dalla zona ricca in materiale organico.



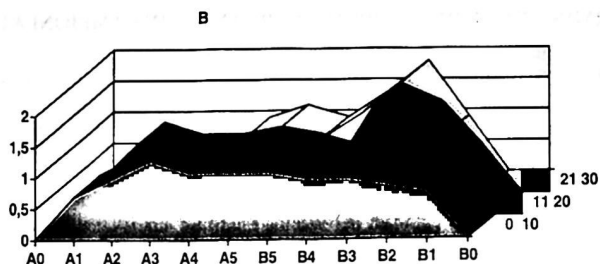
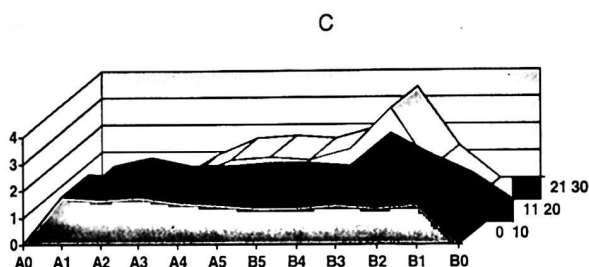


Fig.1 Andamento degli acidi fulvici (B) e degli acidi umici

La quantità totale risulta però costante (Fig.1C).



Negli strati sottostanti non si sono osservate variazioni di rilievo; fanno eccezione le stazioni B₃ e B₄ in cui si è trovata una quantità molto più elevata sia di acidi umici che di acidi fulvici.

I dati relativi all'analisi elementare mostrano per questi campioni un contenuto in ossigeno superiore a quello di tutti gli altri, mentre negli spettri FTIR di questi composti gli assorbimenti nella regione 1050-1000 cm⁻¹ sono molto più pronunciati che per gli altri composti umici, evidenziando un contenuto di carboidrati notevolmente elevato.

L'insieme dei dati ottenuti sottolinea che i composti umici estratti dagli strati di sedimento della stazione B₃ si differenziano da tutti gli altri sia come resa che per quanto si riferisce alla loro struttura facendo ipotizzare la presenza di una fonte diversa di materiale organico. In effetti, indagini effettuate hanno rilevato la presenza di una struttura lignea sommersa posta nella zona in esame, a probabile sostegno delle antiche rive.

Si può quindi ipotizzare che attraverso lo studio delle strutture dei composti umici estratti dai sedimenti e delle loro variazioni sia possibile mettere in evidenza fonti puntiformi di materiale organico, precursore delle sostanze umiche, e, di conseguenza, individuare la presenza di strutture lignee sommerse.

LA DETERMINAZIONE DEL CARBONIO ORGANICO IN CAMPIONI ATMOSFERICI

Sergio Zappoli¹, Antonella Andracchio¹, Domenica Tonelli¹, Sandro Fuzzi², Maria Cristina Facchini²

1 Dipartimento di Chimica Fisica e Inorganica, Viale Risorgimento 4, 40136 Bologna

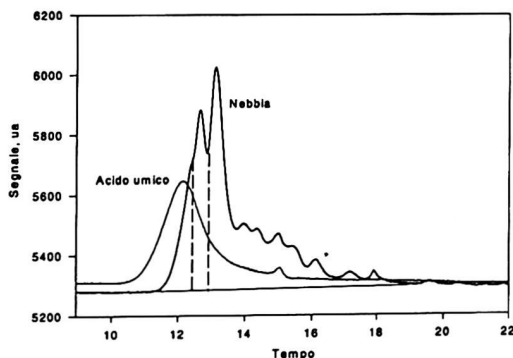
2 Istituto FISBAT - CNR, 40129 Bologna

La determinazione della frazione organica nel sistema multifase atmosferico sta assumendo una sempre maggiore importanza per gli effetti che ha sui fenomeni di nucleazione (formazione di nubi) e per il suo ruolo diretto e indiretto sui cambiamenti climatici [1]. Anche se la componente organica costituisce una frazione sostanziale del particolato atmosferico fine, sia la sua composizione molecolare sia le sue proprietà chimico-fisiche sono tuttora scarsamente caratterizzate [2,3]. Studi recenti [4,5], riportano che la percentuale di carbonio organico nell'aerosol varia dal 20 al 40%. Questa frazione è poco estraibile con solventi organici (10-15% del carbonio organico totale) e mostra, al contrario, una spiccata solubilità in acqua (20-50% del carbonio organico totale). In ogni caso, la quantità totale di sostanze organiche identificabile con tecniche classiche di GC-MS è una frazione non rilevante rispetto al carbonio organico totale.

Alla luce di questi aspetti si rende indispensabile una riconsiderazione delle strategie analitiche fin ora utilizzate per la speciazione della sostanza organica in campioni atmosferici. La tecnica analitica più adatta a questo scopo si è rivelata essere la cromatografia di esclusione dimensionale (SEC) accoppiata ad analisi di TOC e a frazionamento su resina XAD.

I campioni di nebbia e gli estratti acquosi di aerosol analizzati in SEC forniscono tipicamente il cromatogramma riportato nella Figura 1. Nella stessa figura è riportato anche il cromatogramma di un acido umico, scelto come modello di sostanza organica macromolecolare diffusa nell'ambiente, che evidenzia

Figura 1. Cromatogramma in SEC di un campione di nebbia e di una soluzione acquosa di acido umico



come parte del picco cromatografico del campione cada a volumi di ritenzione vicini a quelli dell'acido umico [5].

Il frazionamento del campione su resina XAD-2, ottimizzato attraverso tecniche di progettazione sperimentale e verificato su miscele sintetiche di acidi organici e acidi umici, ha permesso di isolare le differenti componenti che contribuiscono al profilo cromatografico in SEC del campione prima del frazionamento. Sulla base di questa informazione è stato quindi possibile suddividere il picco cromatografico in tre frazioni corrispondenti a tre distinte classi di composti delle quali le prime due sono ascrivibili a composti di natura macromolecolare e la terza a composti a più basso peso molecolare. È stato infine osservato che l'area totale del picco in SEC mostra una buona correlazione con i valori misurati di TOC ($R^2 = 0.9890$), come già osservato da altri autori su campioni acquosi di altra natura [6].

Sulla base delle varie informazioni ottenute è stato quindi possibile individuare tre classi principali di composti a diverso peso molecolare e quantificarle in termini di carbonio organico. Questo risultato rappresenta un notevole avanzamento nella comprensione della composizione della frazione organica in campioni atmosferici e una solida base per sviluppare la caratterizzazione qualitativa di tali classi di composti.

- 1) T. Novakov, J.E. Penner, *Nature*, **365** (1993) 823-826.
- 2) P. Saxena P., L.M. Hildemann, P.H. McMurry and J.H. Seinfeld, *J. Geophys. Res.*, **100** (1995) 18755-18770.
- 3) P. Warneck, *Chemistry of the Natural Atmosphere*. Academic Press, (1988) San Diego.
- 4) S. Fuzzi, S. Zappoli, *The organic component of fog droplets*, in: *Proceedings 12th International Conference on Clouds and Precipitation*, Zurigo (CH) 12-23 Agosto, 1996.
- 5) S. Zappoli, A. Andracchio, S. Fuzzi, M.C. Facchini, A. Gelencsér, G. Kiss, Z. Krivácsy, Á. Molnár, T. Barcza, E. Mészáros, H-C. Hansson, K. Rosman, Y. Zebühr, *Atmospheric Environment*. (1998) submitted
- 6) S. Johnsen, K. Martinsen, G.E. Carlberg, E.T. Gjessing, G. Becher, M. Læg Reid, *Sci. Tot. Environ.*, **62** (1987) 13-25

DETERMINAZIONE COLORIMETRICA DI CARBOIDRATI TOTALI IN CAMPIONI ACQUA E PARTICELLATO MARINO: MIGLIORAMENTO MEDIANTE ULTRASUONI DELL'EFFICIENZA DELL' IDROLISI PRELIMINARE

M. Mecozzi, M. Amici, E. Pietrantonio

*Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare,
Via di Casalotti n.300, 00166 Roma*

La letteratura scientifica riporta numerosi metodi (cromatografici e spettroscopici) per determinazione del contenuto in carboidrati totali di campioni ambientali. In particolare recentemente, determinazione di carboidrati in acqua e particellato marino ha assunto un rinnovato interesse alla dell'importanza che essi hanno assunto negli studi di fenomeni quali la formazione delle mucillagini Adriatico. Tutti i metodi analitici impiegati prevedono l'idrolisi dei polisaccaridi a monosaccaridi prima della derivatizzazione per la determinazione cromatografica o colorimetrica. In ogni caso l'idrolisi polisaccaridi a monosaccaridi è un passaggio critico in grado di portare a pesanti sottostime del contenuto reale di polisaccaridi nei campioni. Molti studi hanno enfatizzato che idrolisi condotte con HCl [1] garantiscono una idrolisi quantitativa per cui si preferisce operare con H₂SO₄ 12 M a temperatura ambiente oppure con H₂SO₄ 0.5M a 100°C. Questi trattamenti migliorano indubbiamente l'efficienza dell'idrolisi ma, come dimostrato da altri studi, si osserva ancora la presenza di alcuni polisaccaridi fine del trattamento [2]. Inoltre una parziale ossidazione dei carboidrati presenti non può essere esclusa priori dato il trattamento con H₂SO₄ a caldo.

L'industria già utilizza gli ultrasuoni per l'idrolisi di carboidrati allo scopo di ridurre le intolleranze alimentari dovute al lattosio [3]. Abbiamo pertanto valutato la possibilità di impiegare gli ultrasuoni per facilitare l'idrolisi di polisaccaridi e migliorare quindi l'accuratezza analitica della loro determinazione. Allo scopo abbiamo trattato con ultrasuoni a temperatura ambiente sia campioni di acqua e particella marino, sia soluzioni di carboidrati complessi come amido solubile. L'efficienza di idrolisi (seguita mediante il metodo colorimetrico di Dubois [4]) è stata confrontata con quella ottenibile mediante comuni metodi di idrolisi con H₂SO₄. In tutti i casi abbiamo riscontrato una migliore efficienza nei campioni sottoposti ad ultrasuoni. Inoltre gli spettri visibili di soluzioni standard di glucosio fruttosio e saccarosio trattati con ultrasuoni e successivamente derivatizzati con il metodo di Dubois risultano praticamente uguali nei termini dell'errore sperimentale, a quelli dei campioni non trattati; pertanto le decomposizioni dovute al trattamento con ultrasuoni possono essere escluse. Il trattamento con ultrasuoni si segnala pertanto come un semplice e rapido metodo per migliorare l'accuratezza analitica nella determinazione di carboidrati in campioni di interesse ambientale.

- 1) J.D. Pakulski, R.Benner, *Mar. Chem.*, **40**, 143-160, 1992
- 2) A.M. Compiano, J.C. Romano, F. Garabetian, P. Laborde, *Mar. Chem.*, **42**, 237-251, 1993
- 3) D. Wang, M. Sakakibara, N. Kondoh, K. Suzuki, *Journ. Chem. Tech. & Biotech.*, **65**, 86-92, 1996
- 4) M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, F. Smith, *Anal. Chem.*, **28**, 350-356, 1956

IMPIEGO DI TECNICHE DI ESTRAZIONE IN FASE GAS PER LA DETERMINAZIONE DEL PROTOSSIDO DI AZOTO IN MATRICI AMBIENTALI MEDIANTE CROMATOGRAFIA GAS-SOLIDO AD ALTA RISOLUZIONE

M. Careri, A. Mangia, M. Musci, D. Poli

Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università di Parma, Viale delle Scienze, 43100 Parma, Italy

Negli ultimi anni l'interesse alla determinazione con adeguata accuratezza del protossido di azoto in acque ed in sedimenti è notevolmente aumentato come conseguenza del riconoscimento del ruolo di questo gas nell'effetto serra e nella riduzione dello strato di ozono stratosferico [1]. I metodi di analisi del protossido di azoto in campioni biologici ed ambientali sono generalmente basati sull'impiego della tecnica dello spazio di testa statico (SH) e successiva analisi in gascromatografia con colonne impaccate [2,3]; tecniche quali lo spazio di testa dinamico (DH) ed il purge-and-trap (PT) non sono state a tutt'oggi utilizzate per il campionamento di questo analita.

Nel presente lavoro sono poste a confronto tre tecniche di estrazione in fase gas, quali lo spazio di testa statico, lo spazio di testa dinamico ed il purge-and-trap per l'analisi in tracce del protossido di azoto in matrici ambientali. Le tecniche di campionamento sono state abbinate on-line alla gascromatografia ad alta risoluzione, effettuando la separazione su una colonna capillare PLOT, con una fase stazionaria solida costituita da setacci molecolari (5 Å), utilizzando la rivelazione ECD. I risultati sono stati valutati in termini di intervallo di linearità di risposta, di limite e di capacità di rivelazione, di resa di estrazione.

Allo scopo di valutare l'influenza della matrice sulle analisi mediante spazio di testa e purge-and-trap, è stata confrontata la resa di estrazione di N₂O da diverse matrici acquose con quella ottenuta da acqua bidistillata. Come atteso, la presenza di sostanze inorganiche ed organiche nella matrice è risultata influenzare sensibilmente la distribuzione del protossido di azoto tra la frazione gassosa dello spazio di testa e la fase liquida del campione, come indicato dai valori della costante di ripartizione K, riferiti ad acqua di mare ed acqua di mare sintetica, in condizioni di spazio di testa statico. A causa dell'effetto "salting out", nel caso dell'acqua di mare sintetica è stata ottenuta una resa di estrazione in fase gas più elevata, mentre la presenza di sostanze organiche risulta deprimere il recupero del protossido di azoto da campioni di acqua di mare.

Nei campioni acquosi in esame sono stati calcolati limiti di rivelazione dell'ordine delle decine di pg per questo analita gassoso. Inoltre, considerando che N₂O è un componente presente in tracce in campioni ambientali, è stata valutata la capacità di rivelazione utilizzando una funzione di calibrazione costruita in un intervallo a basse concentrazioni [4].

Nel caso delle tecniche DH e PT, sono state studiate le cinetiche del processo di estrazione, calcolando la costante di velocità del processo di "stripping" e di "purging" rispettivamente. Con entrambe le tecniche di campionamento l'estrazione di N₂O segue cinetiche del primo ordine rispetto al tempo di stripping/purging; il tempo necessario a completare il processo di estrazione ($t_{99,9}$) è risultato essere pari a 28 e 19 min rispettivamente per le tecniche DH e PT.

La tecnica purge-and-trap ha inoltre fornito i migliori risultati in termini di resa di estrazione di N₂O da matrici acquose rispetto a quelli ottenuti utilizzando i metodi di spazio di testa, sia statico che dinamico; questo comportamento è spiegabile considerando la maggiore capacità del gas di purging di estrarre l'analita gassoso da soluzioni acquose.

I risultati delle estrazioni ottenuti mediante le tecniche DH e PT sono stati infine sottoposti ad analisi della varianza multifattoriale con interazioni, che ha consentito di evidenziare l'esistenza di un effetto matrice; è stata quindi calcolata la "funzione di recovery" [4], da cui è risultata la presenza di errori sistematici proporzionali per entrambi i metodi. Per una determinazione accurata del protossido di azoto in acque e sedimenti costieri si rende pertanto necessaria l'applicazione del metodo delle aggiunte.

- 1) R.A. Rasmussen and M.A.K. Khalil, *Science*, 232 (1986) 1623.
- 2) G. Gassmann and S. Dahlke, *J. Chromatogr.*, 598 (1992) 313.
- 3) O. Heinemeyer and E.-A. Kaiser, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 60 (1996) 808.
- 4) W. Funk, V. Dammann and G. Donnevert in *Quality Assurance in Analytical Chemistry*, VCH, Weinheim, 1995.

SVILUPPO DI UN SAGGIO IMMUNOENZIMATICO PER LA DETERMINAZIONE DEL FUNGICIDA BENALAXYL IN VINI PIEMONTESI

*L.Rosso, A. Vanni, G.Giraudi, C. Baggiani, C. Giovannoli, G.Grassi**

Dipartimento di Chimica Analitica, Università degli Studi di Torino, Via P. Giuria, 5 - Torino

**Istituto per le Colture Industriali, Via di Corticella, 133 - Bologna*

e-mail: rosso@ch.unito.it

La determinazione di residui di pesticidi in prodotti ortofrutticoli e la valutazione della persistenza e della distribuzione dei principi attivi nelle diverse parti dei vegetali è possibile impiegando un metodo analitico sensibile e specifico quale il saggio immunochimico, che unisce alle prestazioni di elevata sensibilità e specificità anche rapidità e semplicità di utilizzo.

È stato sviluppato un saggio immunoenzimatico competitivo (ELISA) per la determinazione del benalaxyl (metil N-fenilacetil-N-(2,6-xilil) alinato), un fungicida attivo verso gli Oomiceti appartenenti alla famiglia delle *Peronosporaceae*, ampiamente utilizzato nella coltivazione della vite e di svariati ortaggi (pomodori, peperoni, patate, ecc.). La determinazione analitica abituale del residuo nel vino e negli ortaggi prevede l'utilizzo di tecniche cromatografiche HPLC e GC che, dopo una procedura di clean-up del campione piuttosto laboriosa e una fase di preconcentrazione, consentono di raggiungere un limite di rilevabilità di 0.5 ppb.

Sono stati ottenuti antisieri di topo e di gallina diretti contro il benalaxyl impiegando quale immunogeno un coniugato tra l'albumina bovina (BSA) e un derivato dell'analita (emglutarimido-N-fenilacetil-N-(2,6-xilil) alinato, Bn-EG) scelto opportunamente per ottenere anticorpi il più possibile specifici. In effetti dal test degli antisieri ottenuti è emersa una reattività crociata praticamente trascurabile verso numerosi pesticidi a struttura simile, confermando la pressoché completa specificità degli anticorpi.

Il formato di saggio immunoenzimatico impiegato è di tipo competitivo e consiste nella competizione per il legame con una quantità fissa di anticorpo tra il benalaxyl contenuto nel campione e una quantità fissa di coniugato Bn-EG-ovoalbumina (o benalaxyl idrolizzato (Bn-COOH)-ovoalbumina) immobilizzato sui pozzetti di una piastra per microtitolazione. Raggiunto l'equilibrio tra i reagenti, l'anticorpo legato all'analita viene allontanato mediante lavaggio, mentre quello legato al benalaxyl in fase solida viene successivamente determinato attraverso il legame con un anticorpo anti γ -globuline di topo o di gallina, marcato con un enzima. Misurando poi il segnale colorimetrico generato dalla reazione dell'enzima con un adeguato substrato/cromogeno, si ottiene un'assorbanza della soluzione inversamente proporzionale alla concentrazione di analita nel campione.

È stato studiato l'effetto del grado di sostituzione dei coniugati Bn-EG-ovoalbumina e Bn-COOH-ovoalbumina e della loro concentrazione per la preparazione della fase solida ottimale, così come sono state valutate attentamente le condizioni operative del saggio: la diluizione ottimale dell'anticorpo, il pH, la composizione dei tamponi. La curva di taratura così ottimizzata presenta un intervallo di lavoro compreso tra 0.5 e 50 ppb con un limite di rilevabilità di 0.35 ppb, impiegando antisiero di topo, e di 0.20 ppb, impiegando antisiero di gallina.

Il saggio è stato applicato per la determinazione del benalaxyl su matrice reale: prove eseguite su campioni acquosi (acqua potabile e acqua di fiume di zona agricola) e vini piemontesi, hanno dimostrato la possibilità di determinare direttamente e quantitativamente il benalaxyl in concentrazioni comprese tra 0.5 e 50 ppb, con recuperi compresi tra l'80 e il 120%.

CARATTERIZZAZIONE SPETTRO-ANALITICA DI UN FILM DI POLIPIRROLO METOSSILATO UTILIZZATO COME BARRIERA PERMSELETTIVA IN BIOSENSORI AMPEROMETRICI

G.E. De Benedetto^o, F.Palmisano^{*}, L. Sabbatini^{*}, P.G. Zambonin^{*}, J.A. Mielczarski[#]

^oDipartimento di Chimica - Università della Basilicata - via N. Sauro, 85 - 85100 Potenza (Italy)

^{*}Dipartimento di Chimica - Università degli Studi di Bari - Via Orabona, 4 - 70126 Bari (Italy)

[#]ENSG-CNRS 7569-LEM, rue du doyen M. Roubault, BP 40 - 54501 Vandoeuvre-les-Nancy, France

I film polimerici conduttori preparati mediante polimerizzazione elettrochimica di opportuni monomeri costituiscono una importante classe di materiali. Il polipirrolo (PPY), per la possibilità di elettrosintesi in mezzi acquosi [1] e la buona stabilità chimica [2] del materiale risultante e' tuttora molto studiato ed utilizzato per esempio come strato protettivo, o come mezzo di intrappolamento di enzimi nella fabbricazione di biosensori [3]. In tale ambito le caratteristiche di trasporto dei film di PPY sono di notevole importanza e sono state eseguite diverse indagini rivolte ad una regolazione fine di queste proprietà. Ad esempio i processi di over-ossidazione elettrochimica, che producono modificazioni irreversibili nella struttura del film, sono stati ampiamente studiati con l'obiettivo di modulare la permeabilità del polipirrolo nei confronti di specie in soluzione. Differenti caratteristiche di permeabilità possono essere ottenute variando i componenti della soluzione di elettrolita in cui l'overossidazione e' condotta [4,5].

L'overossidazione in una soluzione di metanolo contenente NaOH [6] porta alla formazione di una membrana, che possiamo identificare come M-PPY_{ox} con caratteristiche anti-interferenziali differenti da quelle del PPY_{ox} preparato da una soluzione di tampone fosfato. Infatti mentre l'efficienza di reiezione per ascorbato e cisteina non mostrava variazioni dovute al differente mezzo in cui era condotta l'ossidazione, il paracetamolo e l'urato erano esclusi dalla membrana in modo meno efficiente. Evidentemente le differenti modifiche strutturali nel PPY, che si avevano durante il processo di overossidazione in MeOH, erano responsabili per le differenze osservate nelle proprietà chimico fisiche del film (rispetto a quelle osservate nel caso di dispositivi a doppio strato PPY_{ox}/PPD [7] o semplicemente PPY_{ox} [8] in tampone fosfato a pH 7).

Le spettroscopie fotoelettronica di RX (XPS) e infrarossa (FT-IR) di riflettanza sono state utilizzate quali strumenti di indagine per avere informazioni circa la composizione chimica dei film di PPY_{ox} overossidati in soluzioni metanoliche contenenti NaOH. Questi hanno mostrato la presenza di alcune funzionalità, già individuate nel caso di un film di PPY_{ox} preparato in tampone fosfato come responsabili della esclusione delle specie cariche negativamente, come lo ione ascorbato. La contemporanea apertura di nuovi canali di permeazione, come conseguenza del processo di metossilazione subito dal polipirrolo (vedi figura 1), e' probabilmente la ragione delle diverse proprietà permelettive mostrate da questo film. Poiché la metossilazione e' stata osservata soprattutto in β all'azoto pirrolico, la coniugazione dei doppi legami non era estensivamente modificata e il film conservava una buona conducibilità elettronica ($\sigma_{DC}=27.4$ S/cm). Inoltre

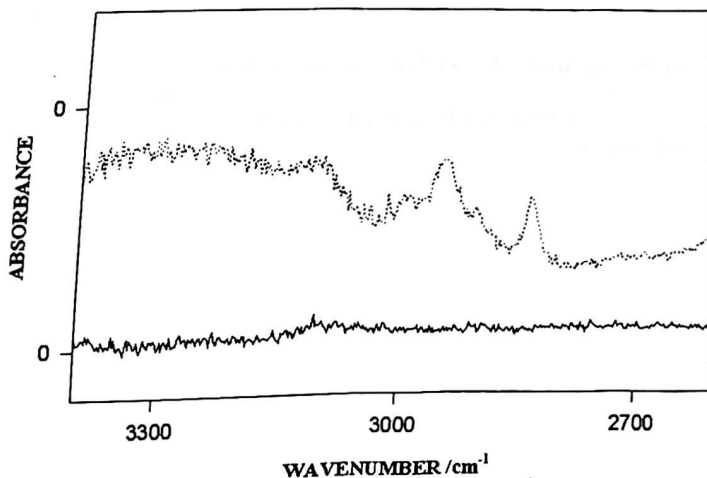


Figura 1 - Spettro IRRAS di PPY pristino dopo immersione per circa 1 h in una soluzione metanolica contenente NaOH 0.3 M (linea continua) e del film overossidato nella stessa soluzione (linea tratteggiata).

la spettroscopia infrarossa permetteva di escludere la multimetossilazione di una stessa posizione, processo che avrebbe distrutto la coniugazione.

Infine, spettri XPS acquisiti a differenti angoli di take off, hanno evidenziato una stratificazione delle funzionalita' metossiliche a partire dall'interfaccia elettrodo-polimero. Dal momento che la metossilazione del PPY e' osservabile solo su film depositati su Pt, sembra ragionevole invocare un intermedio radicalico prodotto nella ossidazione del metanolo catalizzata dalla superficie elettroica.

- 1) S. Asavapiriyant, G.K.Chandler, G.A. Gunawardena, D. Pletcher, J. Electroan. Chem., 177(1984)229
- 2) K.K. Kanazawa, A.F. Diaz, G. P. Gardini, W.D. Gill, J.F. Kwak, G.B. Street, Synth. Met., 1(1980)329
- 3) P.N. Bartlett, R.G. Whitaker, J. Electroanal. Chem., 224 (1987) 37
- 4) M.S. Freund, L. Bodalbhai, A. Brajter-Toth, Talanta 38 (1991) 95
- 5) A. Witowski, M.S. Freund, A. Brajter-Toth, Anal. Chem., 63 (1991) 622
- 6) F. Palmisano, G.E. De Benedetto, C.G. Zambonin, The Analyst, 122 (1997) 365
- 7) F. Palmisano, A. Guerrieri, M. Quinto, P.G. Zambonin, Anal. Chem. 67 (1995) 1005
- 8) C. Malitesta, I. Losito, L. Sabbatini, P.G. Zambonin, J. Electr. Spectr. Relat. Phen., 76 (1995) 629

REALIZZAZIONE DI UN BIOSENSORE ELETTROCHIMICO MONOUSO AL DNA PER MISURE AMBIENTALI

G. Marrazza, M. Mascini e I. Chianella

Università degli Studi di Firenze

Dipartimento di Sanità Pubblica Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale

<http://www.igiene.unifi.it/Chimica/sensori>

Biosensori elettrochimici al DNA possono costituire dei dispositivi utili per la determinazione di specie biologiche patogene e di composti tossici di interesse ambientale che interagiscono con le molecole di DNA.

Per la realizzazione del sensore al DNA sono stati utilizzati elettrodi stampati a base di grafite preparati nel nostro laboratorio tramite la tecnica di serigrafia.

Per ottenere un biosensore che possa misurare sequenze geniche di microrganismi patogeni, è stato preso come modello un oligonucleotide sintetico di 13 basi. La superficie di grafite dell'elettrodo è modificata immobilizzando per adsorbimento l'oligonucleotide a singola elica applicando un potenziale di +500 mV vs. Ag/AgCl. L'elettrodo modificato con il DNA viene immerso in una soluzione di daunomicina (un intercalante del DNA, indicatore di ibridazione) per 2 minuti. Dopo un lavaggio con il tampone, viene effettuata una scansione con la tecnica di cronopotenziometria in tampone citrato che evidenzia il picco anodico della daunomicina legata al DNA immobilizzato sulla superficie dell'elettrodo. Se poi l'elettrodo modificato viene immerso in una soluzione contenente l'oligonucleotide con la sequenza complementare avviene rapidamente la reazione di ibridazione. La scansione cronopotenziometrica dell'elettrodo, dopo il trattamento con la daunomicina, mette in evidenza un aumento del picco anodico dalle daunomicina intercalata al DNA dipendente dalla quantità dell'oligonucleotide complementare ibridato. Utilizzando la cronopotenziometria era possibile mettere in correlazione l'area del picco della daunomicina con la quantità di ibrido formatosi sulla superficie dell'elettrodo. Esperimenti di controllo con sequenze non complementari sono stati effettuati per valutare la specificità del biosensore.

In questo lavoro è stato inoltre sviluppato un sensore al DNA che possa effettuare un rapido esame di campioni (acqua, terreni ecc.) per sostanze tossiche e inquinanti che sono intercalanti o che formano dei complessi con il DNA. L'elettrodo viene modificato immobilizzando il DNA, ottenuto dal Timo di vitello, applicando un potenziale di +500 mV vs. Ag/AgCl. La scansione cronopotenziometrica di questo elettrodo modificato in tampone acetato 0.2 M, pH 5.0 evidenzia un picco anodico a circa +900 mV dovuto all'ossidazione della guanina. L'elettrodo modificato con il DNA viene immerso in una soluzione contenente PCB per 2 minuti. La successiva scansione in tampone acetato evidenzia una diminuzione del picco anodico della guanina proporzionale alla concentrazione di PCB presenti in soluzione. Esperimenti analoghi sono ancora in corso prendendo in esame altre sostanze tossiche come idrazina e biotossine.

Antonio Marcomini, Giulio Pojana e Claudio Carrer

*Dipartimento di Scienze Ambientali
Università di Venezia*

L'ampia varietà delle applicazioni commerciali dei tensioattivi, unitamente alla loro distribuzione nell'ambiente acquatico e terrestre, impone una continua attenzione alla loro accettabilità in termini di biodegradabilità e tossicità nei confronti della fauna acquatica.

Gli alcoli polietossilati alifatici (AE) sono i tensioattivi non ionici più utilizzati. I prodotti commerciali presenti sul mercato si ritrovano prevalentemente sottoforma di miscele complesse di alcoli lineari e parzialmente monoramificati (*oxo*-alcoli) con catene alchiliche di lunghezza variabile tra 10 e 18 atomi di carbonio e catene polietossiliche di lunghezza variabile tra 0 e 25 unità etossiliche. Circa il 10% degli AE commerciali è costituita da miscele C₁₀-C₁₃ multiramificate.

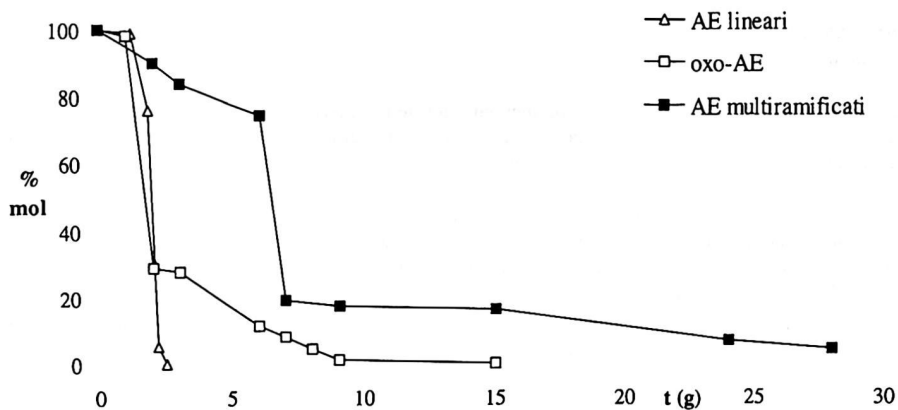
Gli AE esibiscono generalmente una elevata biodegradazione primaria, e non si hanno evidenze di biointermedi tossici o persistenti. Tuttavia le informazioni riguardanti la formazione, la persistenza e la diffusione ambientale degli AE e dei loro biointermedi risultano ancora carenti nel descrivere in maniera esaustiva i meccanismi di biodegradazione implicati, a causa principalmente della mancanza di procedure analitiche specifiche utilizzabili su base routinaria per la determinazione e quantificazione degli AE e della complessa varietà di biointermedi che si possono formare.

Metodiche analitiche specifiche altamente sensibili e selettive basate sulla estrazione in fase solida seguita da separazione mediante HPLC accoppiata a rivelatore a fluorescenza [1] e spettromeria di massa [2], unitamente all'applicazione della risonanza magnetica nucleare (NMR) protonica [3], sono state applicate a test di biodegradazione di screening di alcune miscele commerciali di AE rappresentative delle tre tipologie presenti sul mercato [4]. Le metodologie analitiche impiegate hanno permesso di evidenziare un comportamento delle miscele esaminate fortemente dipendente dalla struttura della catena alchilica. Tre tipici profili, ottenuti nelle stesse condizioni sperimentali (in particolare, con lo stesso inoculo), sono riportate in Figura 1. I tempi di dimezzamento e di biodegradazione primaria relativi alle varie miscele saggiate sono riportati in Tabella 1.

I profili di biodegradazione trovati riflettono i diversi meccanismi responsabili della biodegradazione. Mentre, infatti, nel caso degli AE lineari e degli *oxo*-AE la biodegradazione procede principalmente attraverso una scissione non ossidativa della molecola, con formazione di polietilenglicoli (PEG), miscele di AE completamente monoramificati e contenenti catene alchiliche laterali sufficientemente lunghe (> C₃) degradano essenzialmente attraverso un attacco idrolitico-ossidativo ad entrambe le catene, alchilica e polietossilica. Nel caso di AE multiramificati la biodegradazione avviene, invece, attraverso la idrolisi ossidativa della sola catena polietossilica.

- 1) Zanette M., Marcomini A., Marchiori E. and Samperi R., *J Chromatogr A*, **756** (1996), 159-174.
- 2) Di Corcia A., Crescenzi C., Marcomini A. and Samperi R., *Environ. Sci. Technol.*, **32** (1998) 711-718.
- 3) Marcomini A., Pojana G., De Lazzari A. and Lucchini V., (1998) sottomesso.
- 4) Marcomini A., Zanette M., Pojana G. and Sutter M., (1998) sottomesso.

Fig. 1. Confronto tra i profili di biodegradazione primaria di tre tipiche miscele commerciali di AE.



Tab. 1. Tempi di dimezzamento e di scomparsa delle miscele di AE esaminate.

Tipo di AE	$t_{1/2}$ (giorni)	Scomparsa del substrato (giorni)
AE lineari	1.8-2.4	2-7
oxo-AE	1.7-4.7	15-27
AE multiramificati	5.5-6.5	45-62

STUDI SU DUE PROBLEMI RELATIVI AI DATI ANALITICI: IL TRATTAMENTO DEI DATI SOTTO IL *DETECTION LIMIT* E IL PROBLEMA DELLA 'CHIUSURA' DEI DATI

Roberto Aruga

Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Torino, via Giuria 5, 10125 Torino

Il problema del trattamento dei responsi strumentali sotto il detection limit (dati BDL) ha visto in letteratura varie proposte di soluzione, almeno per quanto riguarda l'aspetto univariato del problema. Queste soluzioni vanno dall'eliminazione delle variabili contenenti dati BDL (tecnica generalmente criticata perchè elimina informazione utile) a vari trattamenti di questi dati, alcuni semplici, altri più sofisticati. Molto più rari sono invece gli studi sui dati BDL nel caso in cui sui dati sperimentali viene poi eseguito un trattamento con tecniche multivariate.

In questo studio si è confrontata l'efficacia di tre tecniche di trattamento dei dati BDL in un tipico caso di elaborazione chemiometrica multivariata di dati ambientali, precisamente in un caso di uso dell'Analisi dei Fattori per studiare le cause di inquinamento di acque. Due di queste tecniche sono relativamente semplici (sostituzione dei dati BDL con valori costanti o con valori casuali tra zero e il DL) mentre la terza è più sofisticata (sostituzione servendosi dell'Analisi dei Componenti Principali). Si è confrontata l'efficacia di queste tre tecniche di fronte a un aumento del numero di dati BDL, appositamente e progressivamente introdotti nel set iniziale.

Tra le varie conclusioni raggiunte, appare interessante il fatto che i primi due metodi (e in particolare il secondo) si sono dimostrati significativamente più efficaci rispetto al terzo, nel senso che permettevano di identificare in modo più accurato le cause dell'inquinamento, anche nei casi di rilevante presenza di dati BDL. Questa conclusione sembra suggerire una certa cautela nel formulare giudizi generali sui vari metodi di trattamento dei dati BDL.

Il secondo problema, della 'chiusura' dei dati, si presenta quando è necessario analizzare e confrontare serie di campioni simili contenenti, oltre ai costituenti tipici e normali, quantità indefinite di sostanze estranee o anche, più in generale, quando si devono analizzare quantità non esattamente riproducibili di campioni. In tali casi è prassi diffusa normalizzare (o 'chiudere') i dati, portando per es. a 100 la somma delle concentrazioni dei costituenti determinati su ogni campione ed esprimendo dette concentrazioni come valori percentuali. Questo modo di procedere è stato criticato da vari autori, soprattutto quando questi dati vengono trattati con tecniche statistiche multivariate fondate sull'uso dei componenti principali. Si è osservato infatti che la 'chiusura' altera sensibilmente la matrice varianze-covarianze, nel senso di creare correlazioni spurie tra le variabili e di ridurre artificialmente il numero dei componenti principali significativi.

In questo studio si è dimostrato, servendosi di dati reali di natura archeometrica, che la 'chiusura' porta a un confronto e classificazione dei campioni fondati sulla correlazione e non sulla distanza, e questo appare corretto per il tipo di campioni indicati sopra. Questo equivale alla semplice considerazione secondo cui, non potendosi per questi campioni conoscere l'ammontare effettivo, appare corretto confrontare i campioni stessi attraverso le percentuali degli analiti all'interno di ogni campione, anzichè confrontare quantità di analita tra un campione e l'altro. Si può anche dimostrare che la creazione di correlazioni spurie e la riduzione dei componenti principali sono una logica conseguenza di questo tipo di confronto fondato sulla correlazione tra i campioni.

SISTEMI ANALITICI CHEMILUMINESCENTI AD ALTA PRODUTTIVITA' (HTS) PER LO STUDIO E SVILUPPO DI NUOVI FARMACI

Mara Mirasoli, Patrizia Pasini, Carmela Russo, Manuela Lotierzo, Piero Valenti e Aldo Roda

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Bologna, Bologna

Lo studio struttura-attività per lo sviluppo razionale di nuovi farmaci richiede l'utilizzo di metodologie analitiche o tests ad elevata produttività (HTS: high throughput screening) da collegare on line con sistemi automatizzati di sintesi chimica combinatoria.

Tali metodiche devono inoltre risultare specifiche ed estremamente sensibili, disponendo spesso di quantità molto basse di molecole sintetizzate, e nello stesso tempo rapide e dirette sul campione.

L'utilizzo di sistemi chemiluminescenti in piastre microtiter a 96 o 384 pozzetti e la rivelazione mediante CCD del segnale analitico e della sua distribuzione spaziale permettono l'analisi quantitativa simultanea, in un'unica seduta analitica, di oltre 5000 campioni/ora con una rivelabilità del tracciante o del sistema chemiluminescente a livello di 10^{-15} - 10^{-18} moli.

Si riportano come esempi di metodi HTS basati sulla chemiluminescenza lo screening di sostanze naturali con attività antiossidante e quello di inibitori dell'acetilcolinesterasi (AChE), potenzialmente utilizzabili come farmaci.

L'attività antiossidante di una molecola può essere velocemente determinata utilizzando un sistema chemiluminescente nel quale la catena di reazioni radicaliche, che termina con l'emissione di fotoni, viene temporaneamente interrotta dall'aggiunta di un antiossidante; l'entità e la durata dello spegnimento dell'emissione luminosa dipendono dall'attività e dalla concentrazione della molecola in esame. E' stata utilizzata una reazione chemiluminescente catalizzata dall'enzima perossidasi, nella quale il luminolo viene ossidato dal perossido di idrogeno generando una catena di reazioni radicaliche che portano alla formazione di luminolo allo stato eccitato, il quale decade allo stato fondamentale emettendo fotoni. Sono state esaminate diverse sostanze naturali ad attività antiossidante, sia in soluzione acquosa che in fluidi biologici prelevati da animali da esperimento trattati con le sostanze stesse. La loro capacità antiossidante è stata confrontata con quella di molecole ad attività nota quali il Trolox, un analogo idrosolubile del tocoferolo, e l'acido ascorbico. In particolare, sono stati studiati oleuropeina estratta da foglie di *Olea europaea*, fenilpropanoidi estratti da *Ajuga reptans*, puerarina estratta da *Pueraria lobata*. Le sostanze in esame e quelle di riferimento sono state preparate in soluzione acquosa a diverse concentrazioni ed aggiunte alla miscela chemiluminescente contenente luminolo, H_2O_2 , *p*-iodofenolo e l'enzima perossidasi. E' stata dimostrata la possibilità di effettuare in maniera semplice e rapida uno screening di diverse sostanze ed uno studio dose-risposta.

L'analisi HTS di un elevato numero di inibitori dell'enzima AChE è estremamente utile nella ricerca di nuovi farmaci per il trattamento di patologie quali *miastenia gravis*, glaucoma e morbo di Alzheimer. Il metodo utilizzato coinvolge l'AChE in un sistema di tre reazioni enzimatiche accoppiate: la prima prevede l'idrolisi da parte della AChE della acetilcolina, con produzione di colina che viene ossidata dalla colina ossidasi. Si producono così betaina e H_2O_2 che, in una reazione catalizzata dalla perossidasi, ossida il luminolo con conseguente emissione di fotoni. L'inibizione dell'AChE per effetto delle molecole in esame causa una riduzione della chemiluminescenza, la cui entità è proporzionale all'attività ed alla concentrazione dell'inibitore. E' stato effettuato uno studio dose-risposta di alcuni inibitori reversibili dell'AChE, in particolare della tacrina, largamente impiegata nella terapia del morbo di Alzheimer, e di due suoi analoghi di recente sintesi che possiedono maggiore selettività e minore epatotossicità. Soluzioni a diverse concentrazioni di inibitore sono state aggiunte al sistema chemiluminescente costituito da AChE, colina ossidasi, perossidasi, *p*-iodofenolo e luminolo. Il metodo sviluppato è risultato particolarmente adatto per studi ad alta produttività grazie alla elevata sensibilità, che permette di utilizzare piccole quantità di campione (0.1-1 μ L in un volume di reazione di 10-20 μ L), e alla possibilità di ottenere informazioni analitiche simultaneamente su un elevato numero di campioni dopo pochi minuti dall'aggiunta dei reattivi.

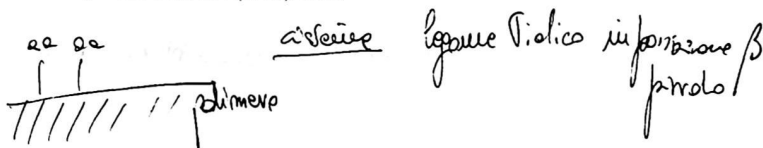
FUNZIONALIZZAZIONE DI FILM POLIPIRROLICI CON RESIDUI CISTEINICI: CARATTERIZZAZIONE ANALITICA MEDIANTE XPS E EQCM

E. De Giglio, L. Sabbatini, P.G. Zambonin

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Bari

Nel nostro laboratorio è in corso da alcuni anni un progetto volto alla realizzazione e caratterizzazione analitica di superfici/interfasi biocompatibili e bioattive [1,2,3,4]. In particolare, tra i vari sistemi, è stata presa in esame la possibilità di modificare le superfici dei materiali per impianti ossei (titanio e sue leghe) per stimolarne la bioattività. La funzionalizzazione mirata delle superfici metalliche del titanio, l'innesto cioè di gruppi che siano in grado, già come tali, di intervenire positivamente nei processi che si instaurano all'interfaccia tra il materiale ed il sistema biologico o che possano servire da "aggancio" per altre molecole bioattive, è stata realizzata non direttamente, ma tramite il rivestimento con un film polimerico conduttore (polipirrolo) e successiva modifica di quest'ultimo, sfruttando la reattività chimica superficiale. Questa strategia, ad esempio, è stata utilizzata per ancorare al titanio un polipeptide [5] contenente la sequenza RGD (Arginina-Glicina-Acido aspartico) così da migliorare l'adesione di cellule osteoblasti, responsabili dell'accrescimento osseo. Come amminoacido terminale per "l'aggancio" del peptide alla superficie polimerica è stata usata la cisteina. Misure preliminari avevano infatti dimostrato che essa si lega irreversibilmente al polipirrolo. Nel presente lavoro è riportata la caratterizzazione analitica di un film di polipirrolo funzionalizzato con residui cisteinici mediante spettroscopia di superficie XPS e microbilancia elettrochimica a cristallo di quarzo. Uno studio accurato degli spettri dettagliati delle regioni XPS relative al carbonio, azoto, ossigeno e zolfo ha fornito chiare indicazioni sull'interazione che si instaura tra l'amminoacido e il polimero. In particolare, valutando le variazioni delle diverse componenti dei fitting dei suddetti segnali prima e dopo la reazione del polimero con la cisteina è stato possibile ipotizzare che l'introduzione di tale molecola avviene nella posizione β dell'anello pirrolico tramite la funzionalità tiolica. Inoltre, accoppiando l'analisi XPS ad uno studio di derivattizzazione chimica superficiale (CD-XPS) è stato possibile valutare la presenza e la disponibilità dei gruppi funzionali $-COOH$ e NH_2 sulla superficie del sistema polipirrolo/cisteina. Per valutare la densità superficiale di cisteina sul polipirrolo sono state condotte, in aggiunta, delle misure con microbilancia elettrochimica a cristallo di quarzo (EQCM). Dopo aver depositato il polipirrolo sull'elettrodo di platino della microbilancia, l'interazione tra la cisteina ed il polimero è stata valutata esponendo il cristallo così modificato a concentrazioni crescenti di cisteina. Infine il cristallo è stato sottoposto ad analisi XPS per poter correlare la densità superficiale di cisteina sul cristallo, ottenuta valutando la variazione totale di frequenza, a quella realizzata nelle condizioni usuali, confrontando il rapporto delle aree dei segnali dello zolfo e dell'azoto nei due casi. La densità superficiale di cisteina è risultata essere di 20 ± 4 nmol/cm². È importante osservare che tale quantità risulta più che sufficiente a migliorare la risposta biologica del materiale se si pensa che Massia et al. [6] osserva che nel caso di un peptide biologicamente attivo è sufficiente una densità superficiale dell'ordine delle fmol/cm² per favorire l'adesione cellulare su un dato substrato.

- 1) A. Guerrieri, L. Sabbatini, P.G. Zambonin, F. Ricci, A. Pocobelli, L. Cerulli, *Biomaterials* 16 (1995) 1025.
- 2) E. De Giglio, L. Sabbatini, M. Colucci, N. Semeraro, S. Colucci, G. Zambonin, *Gnoseis* 1 (1994) 24.
- 3) E. De Giglio, L. Sabbatini, G. Intonti, M. Grano, G. Zambonin, *Egypt. J. Anal. Chem.* 6 (1997) 19.
- 4) E. De Giglio, A. Motta, L. Quagliarella, L. Sabbatini, G. Solarino, P.G. Zambonin, sottoposto a *Journal of Material Science: Materials in Medicine*.
- 5) E. De Giglio, Tesi di Dottorato di Ricerca in Scienze Chimiche.
- 6) S.P. Massia, J.A. Hubbell, *J. Cell Biol.* 114 (1991) 1089.



IMMOBILIZZAZIONE DI PROTEINE ED ENZIMI TRAMITE DEPOSIZIONE ELETTROFORETICA: UNO STUDIO ELETTROCHIMICO/EQCM.

Antonio Guerrieri e Rosanna Ciriello

Dipartimento di Chimica, Università della Basilicata, via N. Sauro 85, 85100 POTENZA, ITALY
e-mail: guerrieri@unibas.it

La deposizione elettroforetica (*electrophoretic protein deposition*) è una metodica di immobilizzazione enzimatica che si basa sui processi elettroforetici dei polielettroliti anfoteri, quali le proteine, sotto l'influenza di un campo elettrico.

Nel metodo originale [1], l'enzima da immobilizzare viene tipicamente miscelato con una dispersione acquosa di collagene, ad un pH differente dal punto isoelettrico di entrambi, al fine di indurre la formazione di aggregati macromolecolari elettrostaticamente carichi che migrino e successivamente si depositino su un elettrodo posto ad un opportuno potenziale elettrico. Variando alcuni parametri sperimentali, ad es. il potenziale elettrico applicato, è possibile realizzare membrane ad enzima immobilizzato di differente spessore che possono successivamente essere utilizzate, per es., nella realizzazione di biosensori amperometrici [2].

Nonostante questa metodica risulti alquanto interessante, anche perché paragonabile, nell'approccio sperimentale e negli intenti, al ben noto metodo di intrappolamento di enzimi in film polimerici elettrosintetizzati ("electrochemical immobilization" [3]), essa sembra riscontrare poca attenzione in letteratura, in particular modo per quanto riguarda il suo impiego per la realizzazione di biosensori amperometrici. In questo contesto, Johnson [4] e Strike *et al.* [5] hanno entrambi riportato la realizzazione di un sensore per il glucosio tramite elettrodeposizione galvanostatica di glucosio ossidasi (GOD) ed albumina di siero bovina (BSA) su platino, seguita da una procedura *ex-situ* di crosslinking con glutaraldeide (GLU), al fine di stabilizzare il deposito proteico sulla superficie elettrodica. Successivamente, questa doppia procedura di deposizione elettroforetica e crosslinking chimico è stata combinata in un singola metodica di elettrodeposizione galvanodinamica [6].

Sfortunatamente, la scarsa letteratura sull'argomento non ha permesso a tutt'oggi di chiarire alcuni aspetti interessanti del processo di deposizione elettroforetica, particolarmente importanti per la realizzazione di biosensori amperometrici di adeguata efficacia. Ad es., è completamente assente uno studio e l'ottimizzazione di una tecnica elettrochimica efficiente che permetta, da una parte, un adeguato controllo sulla deposizione proteica e che minimizzi al tempo stesso l'indesiderato processo collaterale di scarica del solvente. Non meno importante, infine, è l'assenza in letteratura di un approccio efficace alla realizzazione di un biosensore che ovvi ai ben noti problemi di interferenza elettrochimica e di avvelenamento elettrodico, usuali nelle analisi dei campioni reali.

La presente comunicazione intende illustrare alcuni risultati significativi di uno studio elettrochimico/microgravimetrico relativo a processi di immobilizzazione elettroforetica di proteine ed enzimi ottenuti mediante diverse tecniche di deposizione elettrochimica messe a punto nel laboratorio degli autori. In particolare, tecniche di elettrodeposizione galvanodinamica sono state confrontate con le equivalenti potenziodinamiche in termini di qualità del deposito proteico, spessore e controllo spaziale della deposizione. Similmente, lo studio di taluni parametri significativi quali la concentrazione delle proteine (ad es. GOD e BSA) e del crosslinker (ad es. GLU), il pH e la forza ionica dell'elettrolita di supporto ha permesso di ottimizzare il processo di immobilizzazione elettroforetica. Inoltre, l'influenza della tecnica di elettrodeposizione e del potenziale e/o corrente applicati sulla formazione e crescita del deposito proteico è stata valutata tramite l'utilizzo della microbilancia elettrochimica a cristallo di quarzo (*electrochemical quartz crystal microbalance* o *EQCM*). Si è infine esplorata la realizzazione di elettrodi ad enzima immobilizzato interference- e fouling-free tramite l'approccio "ibrido" [7] che prevede la codeposizione di un polimero perselectivo elettrosintetizzato valutandone, in questo contesto, l'influenza della e sulla deposizione elettroforetica.

enzima immobilizzato su polimero elettrosintetizzato selettivo (permeabile)

- 1) W.R. Vieth e K. Venkatasubramanian, in K. Mosbach (Ed.), *Methods in Enzymology*, Vol. XLIV, Academic Press Inc., Orlando, 1976, Ch. 19
- 2) M. Aizawa, I. Karube e S. Suzuki, *Anal. Chim. Acta*, 69 (1974) 431
- 3) P.N. Bartlett e J.M. Cooper, *J. Electroanal. Chem.*, 362 (1993) 1
- 4) K.W. Johnson, *Sensors and Actuators B*, 5 (1991) 85
- 5) D.J. Strike, N.F. de Rooij e M. Koudelka-Hep, *Sensors and Actuators B*, 13-14 (1993) 61
- 6) D.J. Strike, N.F. de Rooij e M. Koudelka-Hep, *Biosensor & Bioelectronics*, 10 (1995) 61
- 7) A. Guerrieri, G.E. De Benedetto, F. Palmisano e P.G. Zambonin, *Biosensor & Bioelectronics*, 13(1) (1998) 103

**MONITORAGGIO BIOLOGICO DELL'ESPOSIZIONE A BENZENE.
DETERMINAZIONE DIRETTA DELL'ACIDO *t,t*-MUCONICO NELLE URINE
MEDIANTE HPLC BIDIMENSIONALE**

P. Serena, A. Tapparo, G.G. Bombi.

*Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Chimica Inorganica Metallorganica ed Analitica
via Marzolo 1, 35131 Padova, tel. 049-8275175, fax 049-8275161*

L'acido *t,t*-muconico (acido (E-E)2,4-esadiendioico) è un metabolita minore del benzene, riconducibile alla via metabolica di ossidazione e apertura dell'anello aromatico. L'interesse verso questo composto è andato crescendo nel corso di questi ultimi anni, quando la ricerca di nuovi indicatori biologici di esposizione al benzene ha individuato nell'acido *t,t*-muconico urinario un potenziale valido sostituto del fenolo, impiegato per molti anni come principale biomarker di esposizione. Numerosi studi condotti su soggetti professionalmente esposti al benzene ne hanno infatti dimostrato l'utilità come indicatore biologico, confermando l'esistenza di una soddisfacente correlazione fra la concentrazione del metabolita nell'urina e la concentrazione di benzene aerodisperso. Più recentemente sono stati condotti studi per verificare la possibilità di usare questo biomarker anche per il monitoraggio dell'esposizione della popolazione generale al benzene ambientale.

La misura della concentrazione di acido *t,t*-muconico nelle urine di individui esposti a dosi molto basse di benzene è vincolata alla disponibilità di idonee metodiche analitiche in grado di fornire risultati affidabili anche a concentrazioni di metabolita inferiori a 50 µg/L. A tale scopo sono stati proposti alcuni metodi cromatografici che, pur presentando soddisfacenti limiti di determinabilità, non consentono in alcun caso una determinazione diretta dell'analita: la complessità della matrice e numerose interferenze cromatografiche impongono infatti l'introduzione di stadi di pretrattamento e purificazione del campione (HPLC-UV) o di derivatizzazione dell'analita (GC-MS), attraverso i quali possono essere introdotti numerosi errori sia sistematici che casuali.

In questa comunicazione viene proposto un metodo diretto per la determinazione mediante HPLC dell'acido *t,t*-muconico nelle urine basato sull'accoppiamento di due processi separativi in linea: una prima eluizione in fase inversa allo scopo di eliminare la maggior parte delle specie ioniche presenti nel campione, seguita, per la frazione di eluato contenente l'analita, da una preconcentrazione/eluizione mediante cromatografia ionica con rivelazione UV. In pratica, un sistema di column-switching controllato direttamente dal cromatografo mediante una valvola a più vie permette di sfruttare la separazione in fase inversa in modo da avviare alla colonna ionica solo una ben definita frazione del campione in esame, limitando così sia il numero dei componenti che possono interferire nella determinazione cromatografica dell'acido *t,t*-muconico che la loro concentrazione.

Tale metodo possiede un limite di determinabilità inferiore a 10 µg/L, confrontabile con quello delle altre metodiche HPLC-UV pubblicate in letteratura, ed una riproducibilità, valutata su campioni reali aventi concentrazione compresa fra 20 e 400 µg/L, del 2.5 %. Prove di recupero condotte sugli stessi campioni hanno portato ad un recupero sempre compreso fra 98-102%. Il metodo è stato inoltre validato mediante la partecipazione al programma interlaboratoriale di controllo di qualità esterno organizzato dall'Istituto Superiore di Sanità con ottimi risultati, che sembrano suggerire l'assenza di cause di deviazioni sistematiche. Un confronto fra i risultati ottenuti con questo nuovo metodo con quelli forniti da un metodo assoluto di determinazione dell'acido *t,t*-muconico, basato sull'utilizzo di standard isotopici e della GC-MS, è attualmente in corso presso questo laboratorio.

UN CANALE DI FRAZIONAMENTO IN CAMPO FLUSSO-FLUSSO (FLFFF) DI TIPO INNOVATIVO PER LA CARATTERIZZAZIONE DI ANALITI SUPRAMOLECOLARI IN DISPERSIONE

P. Reschiglian, A. Zattoni

Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Via Selmi 2, 40126 Bologna

M. Miller, M. Hansen

FFFractionation, LLC, 4797 South West Ridge Blvd, Salt Lake City, UT 84118, (USA)

Le tecniche di Frazionamento in Campo-Flusso (FFF) sono una famiglia di metodiche analitico-separative particolarmente adatte alla caratterizzazione di campioni macromolecolari [1]. La separazione dell'analita si realizza per effetto di un campo di forze applicato trasversalmente ad un canale capillare a sezione rettangolare, all'interno del quale fluisce il liquido di trasporto che amplifica la separazione attuata dal campo. Per tale meccanismo separativo le tecniche FFF sono classificabili, come la cromatografia tradizionale, tra le metodiche a flusso con profilo di potenziale chimico ortogonale [2]. Il tipo di campo applicato (es. di sedimentazione o a flusso, un gradiente termico o elettrico) definisce le varie sottotecniche FFF, ciascuna delle quali possiede un suo elettivo campo di applicazione relativamente al campione. La tecnica di Frazionamento in Campo Flusso-Flusso (FIFFF) impiega come campo di forze trasversale un flusso secondario di liquido di trasporto che attraversa le pareti permeabili del canale. Data la non selettività di tale campo di forze di attrito viscoso, si può ottenere in FIFFF la separazione su scala analitica della più ampia gamma di campioni (molecole, colloidali o particolato) in un intervallo dimensionale tra i 300 Da in peso molecolare e i 50 μm in dimensione, in dipendenza della porosità e del materiale con cui sono costituite le membrane utilizzate quali pareti permeabili del canale.

In questo lavoro viene dato particolare rilievo al frazionamento FIFFF di materiale particolato supermicronico disperso in fase acquosa. Con tali analiti il meccanismo di separazione si realizza in modo *sterico a iperstrato* (St/Hyp/FIFFF), per effetto del bilanciamento tra il campo di flusso applicato trasversalmente e le forze di galleggiamento idrodinamico che agiscono, in direzione opposta al campo, sulle particelle dell'analita [3]. Viene descritto l'impiego di un canale FIFFF innovativo specificatamente progettato per lavorare in modo St/Hyp/FIFFF senza l'utilizzo di membrane di parete. In effetti la presenza di tali membrane può instaurare diversi e significativi fenomeni di non idealità sulla ritenzione, per via delle possibili interazioni con l'analita che si possono manifestare in funzione delle caratteristiche proprie dei diversi tipi di membrana utilizzabili. Il vantaggio di pareti permeabili prive di membrana consiste quindi essenzialmente nel fatto che, assenti in linea di principio tali fenomeni di non idealità, in modo St/Hyp/FIFFF la ritenzione è dipendente esclusivamente dal raggio idrodinamico dell'analita e ricavabile dalla selettività del metodo.

Con il nuovo tipo di canale FIFFF utilizzato in questo studio la selettività ottenuta in St/Hyp/FIFFF è risultata confrontabile con quella propria di canali FIFFF di tipo convenzionale. Tale canale è inoltre in grado di utilizzare anche membrane di parete, potendo quindi separare anche sistemi macromolecolari o colloidali in modo *normale*. Vengono descritti studi di distribuzione dimensionale di tipo quantitativo (PSAD) [4] sia di materiale disperso di dimensioni supermicroniche (polistirene standard, silice ad uso cromatografico) in St/Hyp/FIFFF in assenza di membrane che di colloidali (polistirene standard) in modo *normale* con l'impiego di membrane. Nel primo caso i risultati vengono confrontati con PSAD ottenute mediante un'altra sottotecnica FFF, il Frazionamento in Campo Gravitazionale-Flusso (GrFFF), già dimostratosi efficace ed accurata rispetto a tali caratterizzazioni dimensionali [5].

- 1) J.C. Giddings, *Science*, **260** (1993), 1456
- 2) J.C. Giddings, In "*Unified Separation Science*" J. Wiley&Sons, Inc. 1991, Cap.7
- 3) S.K. Ratanathanawongs, J.C. Giddings In "*Chromatography of Polymers: Characterization by SEC and FFF*", T. Provder, Ed. ACS Symp. Series 521, ACS, Washington, DC 1993, Ch. 2
- 4) P. Reschiglian, D. Melucci, A. Zattoni, G. Torsi, *J. Microcolumn Sep.*, **9** (1997), 545
- 5) P. Reschiglian, G. Torsi, *Chromatographia*, **40** (1995), 467

DETERMINAZIONE DI AMMINE ALIFATICHE IN CROMATOGRAFIA LIQUIDA TRAMITE L'IMPIEGO DI UN ELETTRODO A BASE GRAFITICA MODIFICATO CON IONI NICHEL.

Innocenzo G. Casella, Simona Rosa, Carlo G. Zambonin.

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, 85100 Potenza, Italy.

Le ammine alifatiche sono importanti precursori in diverse sintesi industriali (coloranti, prodotti farmaceutici, stabilizzanti, etc.) nonché componenti minori in svariati sistemi biologici. In particolare anomali livelli di poliammine in tessuti biologici e' indicativo dell'insorgenza di indesiderati processi neoplastici (1). Inoltre a causa della formazione di composti carcinogenici quali le nitrosoammine, la determinazione delle ammine alifatiche nelle diverse matrici biologiche e/o ambientali riveste notevole importanza analitica.

Generalmente tali composti sono determinati tramite tecniche HPLC (i.e. fase inverse, coppie ioniche, scambio cationico) impiegando rivelatori di tipo spettrofotometrico (2 - 4). Purtroppo a causa dell'assenza di idonei gruppi cromofori, la determinazione di ammine e poliammine con rivelatori spettrofotometrici richiede l'uso di specifici processi di derivatizzazione pre- e/o post-colonna.

L'ausilio di sistemi di rivelazione elettrochimica in questi casi assume un notevole interesse, considerando anche la relativa facilità all'ossidazione di queste molecole su elettrodi costituiti da metalli di transizione (5, 6). In tal senso sono stati vantaggiosamente impiegati elettrodi di oro quali sensori amperometrici per la determinazione di ammine e poliammine alifatiche previa separazione cromatografica a scambio cationico con addizione post-colonna di soluzioni alcaline (7-8). Tuttavia a causa dei noti effetti di avvelenamento superficiale da parte di elettrodi di oro e' necessario far ricorso a particolari forme di amperometria a potenziale pulsato (PAD).

Il presente lavoro riguarda lo studio e messa a punto di un sensore amperometrico a base grafitica modificato con ioni nichel teso alla determinazione di ammine e poliammine in mezzo basico. L'elettrodo viene vantaggiosamente impiegato come sensore amperometrico a potenziale costante (0.550 V vs. Ag/AgCl) per la determinazione di composti amminici previa separazione cromatografica in ambiente alcalino. E' stata quindi testata la reale possibilità di separare efficacemente ammine e poliammine direttamente in ambiente basico, evitando laboriose procedure di alcalizzazione post-colonna. Il metodo proposto, attestato a livelli di picomoli quali limiti di rivelabilità, senza la necessità di far ricorso a processi di derivatizzazione e/o trattamento preliminare dei campioni, offre intrinseci vantaggi in termini di semplicità operativa e strumentale.

- 1) U. Bachrack, Y.M. Heimer, *The Physiology of Polyamines*, Vols 1, 2, CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.
- 2) T. Matsumoto, T. Tsuda, O. Suzuki, *Trends in Anal. Chem.*, 9 (9), (1990) 292, and references cited therein.
- 3) I. Krause, A. Bockhardt, H. Neckermann, T. Henle, H. Klostermeyer, *J. Chromatogr. A*, 715 (1995) 67. (dabsyl chloride)
- 4) N. Seiler, B. Knodgen, *J. Chromatogr.* 339 (1985) 45.
- 5) M. Fleischmann, K. Korinex, D. Pletcher, *Electroanal. Chem.*, 31 (1971) 39.
- 6) B.S. Hui, C.O. Huber, *Anal. Chim. Acta*, 134 (1982) 211.
- 7) D.A. Dobberpuhl, D.C. Johnson, *J. Chromatogr. A*, 694 (1995) 391.
- 8) J.C. Hoekstra, D.C. Johnson, *Anal. Chem.*, 70 (1) (1998) 83.

ELETTRODI RICOPERTI CON IDROTALCITI CONTENENTI Ni(II) QUALI SENSORI AMPEROMETRICI. ANALISI DI ALCOLI.

Barbara Ballarin, Renato Seeber, Domenica Tonelli, Chiara Zanardi

Dipartimento di Chimica Fisica e Inorganica, Università di Bologna, V.le Risorgimento 4, 40136 Bologna

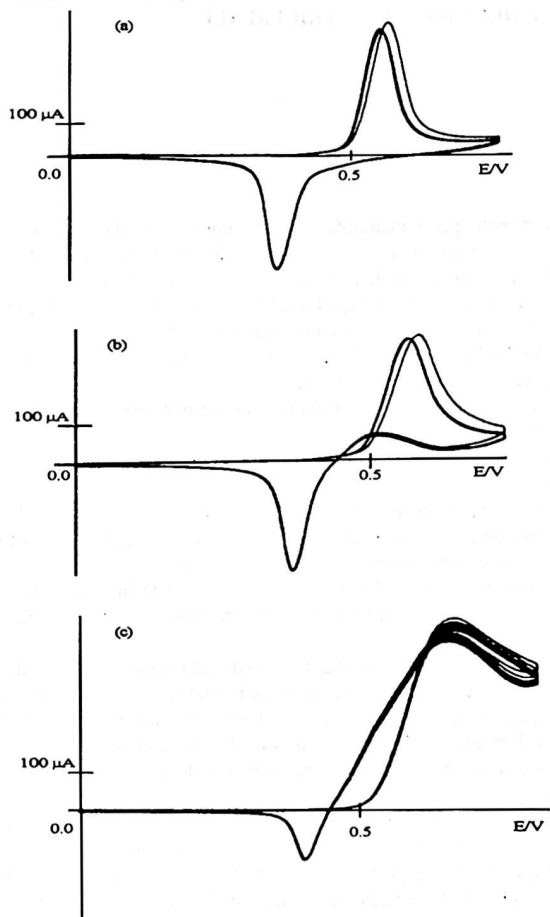
Le argille anioniche tipo idrotalcite (HT) presentano la tipica struttura a strati della brucite, dove gli ioni Mg(II) sono parzialmente o totalmente sostituiti da cationi di opportuna carica e dimensione: $[M(II)_{1-y}M(III)_y(OH)_2]^{y+}(X_{y/n}^{n-})^y \cdot nH_2O$. Nel campo degli elettrodi modificati l'impiego di materiali solidi quali le HT più convenzionali, contenenti ad es. Mg/Al o Zn/Cr, è stato poco sfruttato a causa dell'elevata resistenza elettrica. In tali argille lo scambio di elettroni tra specie elettroattive ed elettrodo è legato alla possibilità da parte delle stesse specie, presenti negli interstrati brucitici o adsorbiti sulla superficie dell'argilla stessa, di raggiungere la superficie elettrodica. Recentemente è stato studiato [1-2] il comportamento elettrochimico di HT contenenti metalli di transizione quali Ni, Co e Mn, osservando che la presenza di siti ossidati M(III) e M(IV) nello strato brucitico permette di aumentare in maniera considerevole la conducibilità del rivestimento. Per quanto riguarda le HT contenenti Ni, tale comportamento è stato giustificato sulla base di una similitudine strutturale e di comportamento elettrochimico con i ben noti ricoprimenti elettrodici costituiti da idrossidi di Ni [3-4].

In questa comunicazione viene presentato il comportamento elettrochimico di elettrodi modificati con HT del tipo [Ni/Al-Cl], ottenuti per deposizione di 20 - 30 μ l di soluzione colloidale su elettrodo di carbone vetroso. L'ossidazione del Ni(II) è stata studiata mediante voltammetria ciclica, valutandone il responso in funzione del pH. In particolare, all'aumentare del pH della soluzione il picco di ossidazione aumenta di intensità e viene registrato a potenziali meno anodici.

E' stata successivamente presa in esame la possibile attività elettrocatalitica nei confronti di diversi alcoli, in particolare di metanolo, etanolo, *n*-propanolo, *iso*-propanolo, *n*-butanolo e *ter*-butanolo. In figura è riportato il segnale voltammetrico ottenuto in presenza di 200 (b) e di 2,700 (c) ppm di metanolo, a confronto col segnale ottenuto in assenza di substrato (a) in una soluzione acquosa contenente NaOH a concentrazione 0.1M, che costituisce l'ambiente ottimale per la registrazione del responso elettrocatalitico. Per tutti gli alcoli analizzati, con eccezione del *ter*-butilico, si osserva un responso corrente - tensione attribuibile ad un meccanismo di rigenerazione catalitica del reagente, ad un potenziale assai vicino a quello relativo all'ossidazione del Ni dell'HT. Possono essere riscontrate alcune differenze rispetto al segnale che si ottiene quando un mediatore redox è presente in soluzione con un largo eccesso di substrato. L'assenza di un plateau di corrente può essere spiegata considerando che l'aumento di Ni nella forma ossidata all'interno dell'HT all'aumentare del potenziale dell'elettrodo induce da un lato migrazione-diffusione di controioni dalla soluzione nell'interstrato e, dall'altro lato, la diffusione di una quantità crescente di substrato entro l'interstrato stesso. La velocità di questo processo di diffusione viene a costituire lo stadio lento dell'intero processo. L'ipotesi che il substrato debba penetrare nell'interstrato della struttura brucitica per poter reagire col Ni ossidato è suffragata dalla constatazione che la reazione catalitica non decorre per nulla quando il substrato è un alcool di ingombro sterico particolarmente elevato, quale il *ter*-butilico.

Per tutti gli altri alcoli presi in considerazione si ottengono curve di calibrazione lineari su di un intervallo di concentrazione particolarmente ampio, all'incirca fino a 3,000 ppm, con un limite minimo di rilevabilità inferiore 10 ppm.

- 1) Qui, J., Villemure, G. *J.Electroanal.Chem.* **1995**, 395, 159.
- 2) Qui, J., Villemure, G. *J.Electroanal.Chem.* **1997**, 428, 165.
- 3) Oliva, P., Leonardi, J., Laurent, J.F., Delmas, C., Bracconier, J.J., Fligarz, M., Fievat, F., de Guibert, A., *J.Power Sources*, **1982**, 8, 229.
- 4) Visscher, W., Barendrecht, E. *J.Electroanal.Chem.* **1983**, 154, 69.



Curve voltammetriche registrate a velocità di scansione del potenziale di 20 mV s^{-1} . Elettrodo di riferimento: SCE.

CONFRONTO DI ALCUNE TECNICHE VOLTAMMETRICHE PER LA QUANTIFICAZIONE DEL Cr(III) E DEL Cr(VI) IN MATRICI REALI

E. Desimoni, P. Banfi

*DIFCA, Università degli Studi di Milano
Via Celoria 2
20133 Milano*

Mentre il Cr(III) è un noto micro-nutriente per i mammiferi e per l'uomo, essendo un costituente essenziale del fattore di tolleranza del glucosio, e diventa tossico solo in casi di contaminazioni o deficienze eccessive, il Cr(VI) non ha ruoli biologici noti. In pratica le diverse specie a base di Cr(VI) sono caratterizzate da una tossicità da dieci a cento volte superiore a quella del Cr(III). Le informazioni disponibili riguardano casi di tossicità orale e per inalazione, tossicità dermica e sistemica, citotossicità, genotossicità e carcinogenicità (1). La determinazione del Cr(VI) e del Cr(III) in matrici di interesse ambientale e agro-alimentare è quindi essenziale ai fini della valutazione della loro tossicità reale.

Le tecniche analitiche utilizzate per l'analisi del cromo in matrici di interesse in campo ambientale sono numerose, ma le più usate (AAS, ICP-AES, XRF, PIXE, SSMS e NAA) non permettono di distinguere tra le due specie di cromo, e quindi richiedono una fase separativa preliminare (1). Il metodo ufficiale per la determinazione del Cr(VI) nelle acque (2) si basa sulla determinazione colorimetrica a 540 nm del complesso violetto Cr(III)-difenilcarbazono (DPCO) prodotto per reazione del Cr(VI) con la difenilcarbazide (DPCI), ma è caratterizzato da un limite rivelabilità spesso inadeguato, dell'ordine di 30 ppb, e da problemi connessi con potenziali interferenze da parte di molibdeno, mercurio, ferro e vanadio.

Le tecniche voltammetriche costituiscono una valida alternativa a quelle succitate in quanto possono fornire informazioni dirette sulla speciazione di molti elementi metallici (3) e permettono limiti di rivelabilità dell'ordine del ppb o inferiori.

Nell'ambito di un progetto finanziato dalla Regione Lombardia, diretto alla messa a punto di una metodica per la determinazione del Cr(VI) in acque irrigue e suoli agrari, sono state confrontate alcune delle tecniche voltammetriche proposte per la determinazione del Cr(III), del Cr(VI) o di quello totale (4-8). In particolare sono state considerate quelle utilizzanti la voltammetria di ridissoluzione a impulso differenziale o di adsorbimento e ridissoluzione a impulso differenziale. Come elettrodo di lavoro, alcune di esse impiegano l'elettrodo a goccia di mercurio pendente (4-7) mentre una usa l'elettrodo a disco rotante in grafite (8). In base ai risultati di prove comparative preliminari, eseguite analizzando il Cr(VI) in campioni sintetici, il metodo proposto da Brainina e coll. (8) è risultato più riproducibile e adeguatamente sensibile. Nella fase di accumulo si sfrutta l'adsorbimento sulla superficie dell'elettrodo a disco rotante di grafite del complesso Cr(III)-DPCO (prodotto, come nel metodo indicato per le acque nel riferimento 2, per reazione del Cr(VI) con la DPCI), mentre nella fase di ridissoluzione si ha la riduzione del DPCO a DPCI. Come nel metodo colorimetrico, si può determinare anche la concentrazione totale di cromo se la determinazione viene eseguita dopo trattamento ossidativo opportuno della matrice in esame.

Le potenzialità del metodo prescelto (7,8) sono state valutate:

- a. mantenendo il sistema sotto controllo statistico mediante analisi periodica di un campione di riferimento "in house" contenente 10.0 ppb di Cr(VI);
- b. valutando il limite di rivelabilità;
- c. analizzando campioni di acqua potabile;
- d. analizzando campioni di acque fluviali;
- e. analizzando campioni di acque reflue a monte e a valle del depuratore di un'insediamento produttivo (conceria);
- f. analizzando un terreno standard addizionato di una concentrazione iniziale nota di Cr(VI) in funzione del tempo di conservazione e di alcuni diversi metodi di estrazione;
- g. confrontando l'effetto dei diversi pretrattamenti del campione sul risultato dell'analisi (punti d-f).

La Figura 1 riporta un esempio di diagramma di calibrazione relativo all'analisi del Cr(VI) nel terreno standard a distanza di una settimana dall'aggiunta del Cr(VI).

I risultati ottenuti sono stati valutati criticamente alla luce delle informazioni di letteratura.

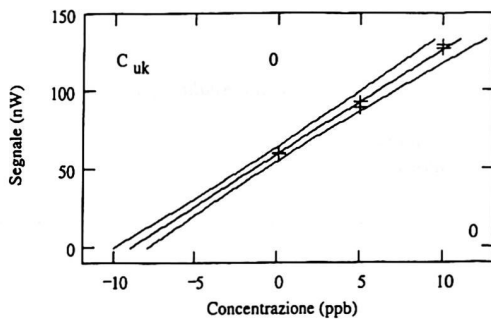


Figura 1 - Determinazione del Cr(VI) nell'estratto acquoso di un campione di terreno standard addizionato di 100 ppm di Cr(VI).

- 1) S.A. Katz, H. Salem, *J. Appl. Toxicol.*, 13 (1993) 217
- 2) *Metodi Analitici per le Acque*, IRSA-CNR, Ist. Pol. e Zecca dello Stato, 1994
- 3) P.M. Bersier, J. Howell, C. Bruntlett, *Analyst*, 119 (1994) 219
- 4) J. Golimowski, P. Valenta, H.W. Numberg, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 322 (1985) 315
- 5) J. Wang, J. Lu, K.B. Olsen, *Analyst*, 117 (1992) 1913
- 6) K.B. Olsen, J. Wang, R. Setladji, J. Lu, *Environ. Sci. Technol.*, 28 (1994) 2074
- 7) Z. Gao, K. Siong Siow, *Electroanalysis*, 8 (1996) 602
- 8) N.A. Malakhova, A.V. Chernysheva, K.Z. Brainina, *Electroanalysis*, 3 (1991) 803

APPLICAZIONI ANALITICHE DI TITOLAZIONI PH-STATICHE

Carlo Maccà, G. Giorgio Bombi, Valerio Di Marco, Lidia Soldà

*Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica e Analitica, Via Marzolo 1
Mirella Zancato*

*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Via Marzolo 5
Università di Padova, 35131 Padova*

La tecnica pH-statica, ampiamente usata in studi cinetici, ha trovato solo sporadiche applicazioni per determinazioni analitiche basate su reazioni che raggiungono l'equilibrio [1,2].

In questa comunicazione vengono presentati i risultati della ricerca di nuove applicazioni della tecnica pH-statica nell'analisi volumetrica. Questo approccio si applica a molte determinazioni volumetriche che comunemente vengono eseguite con vari metodi tradizionali. Esso permette di ottenere rapidamente risultati di buona accuratezza e precisione, ed è facilmente automatizzabile. Inoltre può essere applicato utilmente a studi termodinamici.

Vengono discussi i principi metodologici e le applicazioni a:

- titolazioni di acidi e basi forti e deboli;
- titolazioni complessometriche;
- determinazione di costanti di acidità;
- determinazione selettiva di costanti di stabilità di complessi acidi o basici.

- 1) F. Di Gregorio, R. Sisto, J. Dairy Res. 47 (1980) 417.
- 2) S. Pantel, Anal. Chim. Acta 199 (1987) 1.

DETERMINAZIONE VOLTAMMETRICA DI TRACCE DI METILMERCURIO SU ELETTRODI MODIFICATI CON NAFION MEDIANTE TECNICHE IMPULSATE CLASSICHE E AD ONDA QUADRA MULTIPLA

Ligia Maria Moretto, Paolo Ugo e Gian Antonio Mazzocchin

*Dipartimento di Chimica Fisica, Università di Venezia
Calle Larga S.Marta 2137 Venezia I-30123*

L'impiego di elettrodi modificati per lo sviluppo di metodi elettroanalitici più selettivi e sensibili sta trovando sempre più ampia applicazione [1]. L'accumulo di analiti elettroattivi per scambio ionico su elettrodi modificati con film polimerici, combinato con la rivelazione voltammetrica è già stata sfruttata per un grande numero di applicazioni. Recentemente è stato dimostrato che elettrodi modificati con film scambiatori di anioni tra cui il Tosflex [2,3] o derivati cationici del polipirrolo [4] possono essere utilizzati nella determinazione di concentrazioni submicromolari di mercurio inorganico in acque naturali. Nonostante il mercurio inorganico sia uno degli ioni metallici più tossici, le forme metilate di questo metallo sono ancora più pericolose, in quanto possono essere concentrate attraverso la catena alimentare come conseguenza della loro elevata liposolubilità.

Il metilmercurio, CH_3Hg^+ , è una specie cationica di carattere idrofobico e, quindi, in linea di principio può essere preconcentrato per scambio ionico in un film polimerico, adatto alla preconcentrazione di cationi e di molecole idrofobiche quale il Nafion (polimero perfluorurato polianionico).

In questo lavoro abbiamo esaminato il comportamento voltammetrico del metilmercurio su elettrodi modificati con Nafion in mezzi contenenti cloruro e/o perclorato. I segnali voltammetrici registrati in voltammetria ciclica (CV), in voltammetria differenziale impulsata (DPV) e in voltammetria ad onda quadra (SWV) presentano correnti di picco molto più elevate di quelle osservate su elettrodi non modificati, indicando l'effetto di amplificazione del segnale dovuto alla preconcentrazione dell'analita nel film polimerico. Tale effetto è più accentuato a concentrazioni di cloruro inferiori a 10^{-5} M e a pH inferiori a 4. Ciò risulta in accordo con l'andamento dei diagrammi di distribuzione delle specie di metilmercurio che indicano che in tali condizioni sperimentali le specie prevalenti sono il catione CH_3Hg^+ e la specie neutra CH_3HgCl .

Il voltammogramma ciclico in soluzione 0.01 M di HClO_4 è caratterizzato da un sistema reversibile con un picco di riduzione a -0.560 V (vs Ag/AgCl); aumentando la concentrazione di metilmercurio in soluzione si ottiene una curva di calibrazione lineare la cui pendenza indica una sensibilità di $0.167 \mu\text{A}/\mu\text{M}$. In presenza di concentrazioni crescenti di ioni cloruro in soluzione si osserva uno spostamento del potenziale di picco di riduzione che può essere spiegato dalla presenza del complesso CH_3HgCl .

L'applicazione di tecniche impulsate quali la DPV e la SWV consente la determinazione catodica diretta agli elettrodi modificati di metilmercurio a livello di concentrazioni submicromolari. Questo risultato può essere ulteriormente migliorato impiegando una nuova tecnica a impulsi multipli denominata voltammetria ad onda quadra multipla (MSWV - *multiple square wave voltammetry*), sviluppata recentemente [5]. Nella MSWV ad ogni gradino di una staircase viene sovrapposta una sequenza di impulsi quadri. L'opportuno campionamento della carica durante la sequenza degli impulsi consente un significativo miglioramento del rapporto segnale/rumore rendendo possibile il raggiungimento di limiti di rivelabilità decisamente inferiori di quelli ottenuti con le tecniche impulsate convenzionali. In questo studio è stato impiegato uno strumento prototipo, denominato MPulse, la cui produzione commerciale è attualmente allo studio. Applicando questa tecnica agli elettrodi modificati con Nafion, si è osservato un comportamento voltammetrico del metilmercurio analogo a quello osservato con la DPV e SWV, ottenendo però una maggiore sensibilità ed un limite di rivelabilità di un'ordine di grandezza migliore di quello ottenibile con le tecniche impulsate convenzionali.

- 1) P.Ugo and L.M.Moretto, *Electroanalysis*, 7 (1995)1 105.
- 2) P.Ugo, L.M.Moretto, G.A.Mazzocchin, *Anal.Chim.Acta*, 305 (1995) 74.
- 3) L.M.Moretto, G.A.Mazzocchin and P.Ugo, *J.Electroanal.Chem.*, 427 (1997) 113.
- 4) P.Ugo, L.Spemi and L.M.Moretto, *Electroanalysis*, 9 (1997) 1153.
- 5) D.Krulic, N.Fatouros, J.Chevalet, *J. Electroanal. Chem.*, 287 (1990) 215.

COMPORAMENTO VOLTAMMETRICO DELLO IONE IDROSSIDO IN SOLUZIONI ACQUOSE CON MICROELETTRODI D'ORO. POSSIBILITÀ DI APPLICAZIONI ANALITICHE.

M. Antonietta Baldo, Salvatore Daniele, Carlo Bragato e Gian A. Mazzocchin

Dipartimento di Chimica Fisica, Università di Venezia, Calle Larga S. Marta 2137, 30123 Venezia, Italy

Guy Denuault and Mmdouh Elsayed Abdelsalam

Department of Chemistry, The University of Southampton, Southampton, SO17-1BJ, UK

In letteratura, l'esistenza di un'onda voltammetrica chiaramente dovuta al processo di ossidazione dello ione idrossido ad ossigeno è stata finora verificata soltanto in solventi non acquosi, quale l'acetonitrile [1]. In soluzioni acquose, invece, nonostante siano apparsi numerosi articoli riguardanti il comportamento anodico di metalli nobili in soluzioni di basi forti, non è mai stato evidenziato, almeno a nostra conoscenza, nessun processo di ossidazione per lo ione OH^- separato da quello relativo allo sviluppo di ossigeno dovuto alla scarica del solvente.

Nel corso di alcune indagini esplorative atte alla caratterizzazione di microelettrodi a disco d'oro in soluzioni acquose contenenti NaOH , è stata evidenziata un'onda voltammetrica sigmoidale a potenziali molto positivi (circa 1.3 V vs SCE), a ridosso della scarica del solvente, come illustrato nella Figura 1.

In questo lavoro presentiamo i risultati di uno studio voltammetrico relativo alla caratterizzazione del processo elettrodico riportato in Fig.1. Si è cercato in particolare di verificare se tale processo fosse effettivamente da attribuire all'ossidazione dello ione OH^- , e controllato dal trasporto di massa. Per stabilire il carattere diffusivo di tale onda, sono state condotte alcune misure in soluzioni acquose basiche in presenza di un eccesso di elettrolita, utilizzando microelettrodi a disco d'oro di diverso raggio. Come previsto dalla nota equazione $i = 4nFDCr$, è stata trovata una dipendenza lineare tra corrente limite e raggio elettrodico. Sulla base inoltre di una serie di misure effettuate in soluzioni basiche in assenza di elettrolita di supporto, è stato osservato che la corrente di ossidazione aumenta a causa del contributo di migrazione associato alla diffusione in queste condizioni sperimentali; ciò è un'ulteriore conferma che l'onda voltammetrica osservata è sostanzialmente controllata dal trasporto di massa.

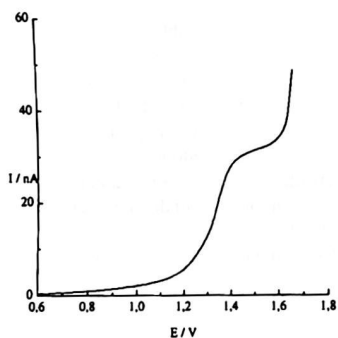


Fig.1- Voltammogramma registrato in soluzione acquosa contenente NaOH 1 mM + NaClO_4 0.1M; microelettrodo d'oro, $r=12.5 \mu\text{m}$; $v= 5 \text{ mVs}^{-1}$.

Ulteriori indagini sono state eseguite per valutare l'utilità del processo sopra evidenziato a scopi analitici. In particolare sono state studiate le relazioni esistenti tra corrente limite - concentrazione dello ione OH^- , e corrente limite - pH della soluzione. Sono stati anche studiati gli effetti sul processo di ossidazione di OH^- della natura della base e dell'elettrolita di supporto, e della formazione di ossidi sulla superficie elettrodica.

I risultati sperimentali ottenuti in questo studio hanno consentito di concludere che effettivamente è possibile sfruttare il processo di ossidazione dello ione OH^- da un punto di vista analitico per determinare la concentrazione in soluzione di tale specie, nonché per risalire al pH di soluzioni basiche per via amperometrica.

1) P.K.S. Tsang, P. Cofre', D.T. Sawyer, J. Am. Chem. Soc., 26 (1987) 3604

ELETTRODI IONOSELETTIVI PER LO IONE *N*-BUTILAMMONIO BASATI SU CALIX[5]ARENI FUNZIONALIZZATI

Marco Giannetto^a, Giovanni Mori^a, Anna Notti^b, Sebastiano Pappalardo^c e Melchiorre F. Parisi^b

^a Dipartimento di Chimica Generale, v.le delle Scienze, Università di Parma

^b Dip. di Chimica Organica e Biologica, Salita Sperone 31, Università di Messina

^c Dipartimento di Scienze Chimiche, Viale A. Doria 6, Università di Catania

Lo sviluppo di sensori molecolari per il monitoraggio *on-line* di specie di interesse chimico e biochimico ha avuto solo recentemente un decisivo impulso¹.

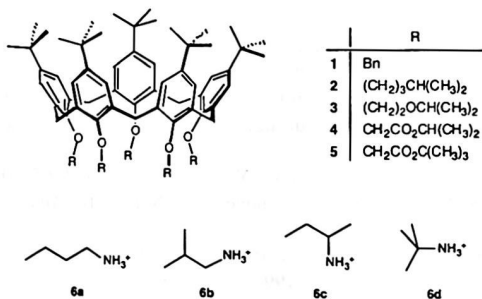
Le specie ioniche possono facilmente essere monitorate con elettrodi ionoselettivi a membrana liquida (ISE) se sono noti e disponibili gli opportuni ionofori per la loro realizzazione². Tuttavia ci sono ancora pochi esempi di ISE sensibili e selettivi a specie organiche e sono soprattutto basati su eteri corona e ionofori naturali^{3,4}.

I calixareni, grazie alla possibilità di preorganizzazione della loro cavità, offrono una interessante opportunità di interagire selettivamente con ioni organici³ grazie alla lipofilia della loro cavità e del bordo superiore. Le cavità dei calix[6]areni sono sufficientemente grandi da ospitare i più comuni ioni organici, ma, a causa della loro flessibilità, risulta complicato impedire l'interconversione tra i vari conformeri.

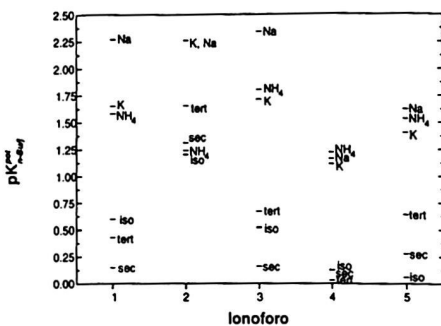
E' stato recentemente mostrato⁵ come i *p-tert*-butilcalix[5]areni penta-*O*-alchilati, bloccati in una conformazione a cono C_{5v}-simmetrica, siano probabilmente i più efficaci e selettivi recettori neutri per ioni *n*-alchilammonio finora riportati in letteratura. Con alcuni di questi ionofori si sono ora preparati gli elettrodi ionoselettivi, e se ne è studiata la selettività e il relativo meccanismo.

A tale scopo il *n*-butilammonio ed i suoi isomeri ramificati sono stati utilizzati come modello: sono stati determinate le costanti di selettività e le sensibilità degli elettrodi basati sui cinque derivati calix[5]arenic studiati.

I cinque calix[5]areni variamente funzionalizzati (1-5) ed i cationi organici studiati (6a-d) sono qui descritti:



Nel diagramma che segue vengono riportate le costanti di selettività potenziometriche nei confronti di 6a, ottenuti con i cinque elettrodi basati sui rispettivi ionofori, considerando come ioni interferenti i tre isomeri ramificati 6b-d, Na⁺, K⁺ e NH₄⁺. La preparazione degli elettrodi ed il metodo di determinazione delle costanti sono descritti in precedenti lavori^{6,7}.



La bassa selettività mostrata dagli elettrodi basati sugli ionofori 3-5 è da attribuire alla loro affinità per Na^+ , presente nella membrana come controione dell'anione lipofilo, come confermato da esperimenti di competizione tra ioni eseguiti tramite ^1H NMR. Le misure di impedenza, effettuate sullo ionoforo 2, hanno dimostrato che l'isomero lineare interagisce con la membrana tramite un processo a minore resistenza rispetto agli isomeri ramificati, suggerendo la presenza di un ulteriore contributo favorevole, di carattere cinetico.

Da uno studio comparativo del comportamento dei cinque ionofori emerge che l'etere penta-isoesilico 2 risulta adatto come ionoforo in elettrodi per n-butilammonio, sia in termini di selettività che di limite di rivelazione ($3 \cdot 10^{-6}$ M): ciò è dovuto all'alto grado di preorganizzazione della sua cavità ed alla debolezza dell'interazione degli ossigeni fenolici al lower rim con gli ioni sodio presenti nella membrana. Le lunghe catene alchiliche al lower rim bloccano il calix[5]arene nella conformazione a cono, permettendo la complementarità stereoelettronica della cavità con lo ione guest. Questa classe di calixareni così funzionalizzati sembra quindi al momento costituire la miglior scelta per la realizzazione di ISEs di alta efficacia per ioni alchilammonio lineari.

Di notevole importanza pratica sembra l'individuazione di questi ionofori utilizzabili in dispositivi potenziometrici capaci di rivelare selettivamente basse concentrazioni di ioni contenenti subunità n-alchilammonio (acido γ -amminobutirrico, peptidi contenenti lisina, ammine biogeniche etc.) con bassi livelli di interferenza da parte degli ioni inorganici pur inevitabilmente presenti nei fluidi biologici.

- 1) Odashima, K., Yagi, K., Tohda, K., Umezawa, Y., *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 1074-1083.
- 2) Jaramillo, A., Lopez S., Justice, J.B.Jr., Salamone, J.D., Neil, D.B., *Anal. Chim. Acta*, **1983**, *146*, 149-159.
- 3) Hassan S. S., Elnemma, E. M., *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 2189-2192
- 4) Tsukube, H., Sohmiya, H., *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 875-878
- 5) Arnaud-Neu, F., Fuangswasdi, S., Notti, A., Pappalardo, S., Parisi, M. F., *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1998**, *37*, 112-114.
- 6) Careri, M., Casnati, A., Guarinoni, A., Mangia, A., Mori, G., Pochini, A., Ungaro, R., *Anal. Chem.* **1993**, *65*, 3156-3160.
- 7) Bocchi, C., Careri, M., Casnati, A., Mori, G., *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 4234.

MESSA A PUNTO DI UN SISTEMA ELETTROCHIMICO IN FLUSSO CONTINUO PER LA MISURA RAPIDA DEL LATTULOSIO NEL LATTE

D. Moscone¹, E. Marconi², R.A. Bernardo², G. Palleschi¹.

1) Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università "Tor Vergata", Via della Ricerca Scientifica, 00133 Roma.

2) DISTAAM, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari Ambientali e Microbiologiche, Università degli Studi del Molise, Via Tiberio 21, 86100 Campobasso.

Un nuovo metodo per la determinazione del lattulosio nel latte sterilizzato ed UHT e' stato messo a punto e validato. Questo disaccaride infatti, assente nel latte crudo, si forma durante i trattamenti termici a cui viene sottoposto il latte per aumentarne la sicurezza igienica e la conservabilita'. Esso e' stato proposto come indice di qualità del latte e la IDF (International Dairy Federation) e la EC (European Community) hanno indicato una soglia di concentrazione per questo analita pari a 60 mg/dl per distinguere il latte UHT da quello sterilizzato.

I metodi attualmente utilizzati per la sua determinazione (cromatografici, tramite GLC o HPLC; oppure enzimatico-spettofotometrico) prevedono un trattamento preliminare del campione (deproteizzazione) ed arrivano a richiedere fino a 22 ore per l'analisi (metodo spettrofotometrico).

Con il sistema proposto invece bastano 10 minuti per una misura diretta "on-line" di lattulosio nel latte. L'innovativo sistema di campionamento, basato sulla microdialisi, permette infatti di evitare pretrattamenti quali la deproteizzazione o la scrematura. La misura vera e propria si basa invece sulla determinazione amperometrica, tramite un biosensore, del fruttosio prodotto dall'idrolisi enzimatica del lattulosio da parte dell'enzima β -galattosidasi immobilizzato su reattore.

Il sistema ha mostrato ottime caratteristiche di riproducibilità ($CV \cong 1\%$) e di tempo di vita, superiore a 3 mesi di uso giornaliero. L'accuratezza del metodo e' stato inoltre validata con recuperi di lattulosio standard, che hanno mostrato valori compresi tra il 96 e il 102%. Inoltre il confronto con il metodo enzimatico spettrofotometrico ha mostrato un coefficiente di correlazione pari a 0.9997.

Il limite di rilevabilità del metodo proposto, pari a circa 3 mg/dl, si e' rivelato inferiore a quello di tutti gli altri metodi di riferimento.

**LE SPETTROSCOPIE MICRO-FTIR E MICRO-RAMAN
PER LA CARATTERIZZAZIONE DEI PIGMENTI INORGANICI
IN ANTICHE OPERE D'ARTE**

S. Bruni, F. Cariatì, F. Casadio

Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica e Analitica – Università di Milano – Via G. Venezian, 21 – 20133 Milano

Le spettroscopie vibrazionali, FTIR e Raman, costituiscono un utile metodo per l'identificazione univoca di pigmenti inorganici. Abbinate all'utilizzo di un microscopio, esse consentono inoltre di risolvere problemi peculiari dell'analisi di opere d'arte, quali la necessità di esaminare piccoli frammenti o colori applicati in più strati o ancora miscele di pigmenti impiegate per ottenere particolari sfumature.

Per la registrazione di spettri micro-FTIR possono essere impiegate svariate tecniche di campionamento, comprendenti l'esame in trasmissione di grani di pigmento in cella di diamante oppure l'osservazione in riflessione speculare di sezioni trasversali lucide dei frammenti. È opportuno rilevare che la possibilità di acquisire spettri FTIR in riflessione consente altresì l'indagine non distruttiva di opere di natura e dimensioni appropriate, come ad esempio una pergamena sforzesca del XV secolo la cui decorazione miniata è stata appunto studiata con queste tecniche presso il nostro laboratorio.

Tali considerazioni sulla potenziale non distruttività del metodo possono essere estese alla spettroscopia micro-Raman, che, più in generale, non richiede una specifica preparazione dei campioni, prestandosi tra l'altro all'analisi di frammenti sia tal quali sia sotto forma di sezioni lucide.

Le due microspettroscopie vibrazionali risultano assolutamente complementari dal punto di vista dell'applicazione in esame. Infatti, la tecnica Raman consente l'esplorazione di un più esteso campo spettrale rispetto alla spettroscopia micro-FTIR ed è pertanto l'unico mezzo per l'identificazione di pigmenti la cui composizione corrisponda ad ossidi o solfuri metallici (quali cinabro, minio, litargio, terra rossa, ecc.). Tuttavia, i fenomeni di fluorescenza spesso associati ai leganti utilizzati nella stesura dei pigmenti stessi possono rendere difficoltosa l'acquisizione dello spettro Raman, specie nei casi in cui quest'ultimo risulti particolarmente debole, benché tali fenomeni siano in parte controllabili tramite un'opportuna scelta della lunghezza d'onda di eccitazione dello spettro medesimo. Risulta quindi prezioso l'impiego della microspettroscopia FTIR, che consente il riconoscimento di pigmenti aventi ad esempio la composizione di carbonati (quali azzurrite e malachite) o silicati (quali terre verdi, blu egizio e lapislazzuli). Qualora l'identificazione sia effettuata sulla base di spettri IR in riflessione, occorre considerare la possibilità di variazioni delle intensità relative e frequenze delle bande caratteristiche, prodotte da fenomeni di orientazione dei grani cristallini. Riveste un certo interesse, infine, anche la possibilità di riconoscere, mediante la tecnica micro-FTIR, la classe di sostanze cui appartengono i leganti utilizzati nella stesura del colore.

Verranno presentati esempi dell'impiego delle suddette tecniche spettroscopiche per l'indagine di opere di varia natura, quali la già citata pergamena quattrocentesca, il ciclo di affreschi di Vincenzo Foppa della cappella Portinari in S. Eustorgio a Milano e il ciclo di dipinti murali di scuola leonardesca della chiesa di S. Andrea in Melzo (MI).

SPECIAZIONE DI RAME E MANGANESE IN LATTE MEDIANTE SPE/ICP-AES

Ornella Abollino, Maurizio Aceto, Maria Concetta Bruzzoniti, Edoardo Mentasti, Corrado Sarzanini

Dipartimento di Chimica Analitica, via P. Giuria 5, 10125 Torino

La determinazione delle specie in cui un elemento si distribuisce, all'interno di una matrice, fornisce notoriamente informazioni più utili dal punto di vista bio-tossicologico rispetto alla conoscenza della semplice concentrazione totale. La speciazione dell'elemento risulta quindi essere molto importante.

Nel campo dell'analisi degli alimenti, gli studi di speciazione possono dare informazioni relative alla tossicità, all'assimilabilità e in generale agli effetti delle diverse specie di un elemento presente in un alimento. Particolarmente significative possono essere le indagini sul comportamento dei metalli pesanti e di transizione, presenti negli alimenti in concentrazioni a livello di tracce o ultratracce ma aventi attività biologica non trascurabile, soprattutto se presenti in associazione a composti organici quali proteine, vitamine, ecc..

Gli studi di speciazione sono tuttavia difficoltosi in quanto le concentrazioni delle specie in esame sono spesso al di sotto dei limiti di rilevabilità delle tecniche analitiche utilizzate; inoltre, i procedimenti utilizzati per studiare i campioni possono variare gli equilibri presenti tra le varie specie o alterarne le strutture. Infine, è molto difficile (se non impossibile) disporre di materiali di riferimento per verificare l'accuratezza delle procedure adottate.

Nel nostro laboratorio è stato sviluppato un metodo per il trattamento selettivo e la determinazione di specie metalliche in campioni di alimenti liquidi. Il metodo prevede l'interfacciamento di un sistema di estrazione in fase solida (SPE) con uno spettrometro a emissione atomica con plasma (ICP-AES). Due microcolonne, contenenti rispettivamente una resina chelante Chelex-100 e una resina a scambio anionico AG1 X-8, sono state poste in sequenza per ottenere la separazione delle specie cationiche ed anioniche degli analiti nel campione in esame. Le due frazioni trattenute sono state in seguito desorbite sequenzialmente con opportuni reattivi e inviate in linea allo spettrometro; i dati sono stati quantificati per mezzo di un integratore. La procedura è stata ottimizzata per la determinazione di Cu e Mn nel latte. Il pretrattamento del campione, in questo caso, prevede la precipitazione con tampone acetico (pH 4.8) della caseina e dei composti associati alle proteine. Il recupero degli analiti è stato ottimizzato variando alcuni parametri (pH, forza ionica, presenza di ioni competitori) e scegliendo soluzioni eluenti che fornissero risultati quantitativi; una soluzione di HCl 2 M è risultata essere ottimale per l'eluizione di entrambe le classi di composti (specie cationiche e anioniche). Le concentrazioni ottenute dalle varie frazioni (totale, anionica, cationica e non trattenuta) sono state calcolate col metodo delle addizioni standard e validate analizzando le frazioni stesse off-line con uno spettrometro ad assorbimento atomico con fornetto di grafite. Il latte è stato scelto come matrice-di studio. Esso ha un basso contenuto salino, ma il metodo può essere applicato a diversi substrati aventi salinità moderata (< 1 %).

I risultati ottenuti, pur essendo strettamente dipendenti dal tipo di estraenti utilizzati, consentono di formulare alcune ipotesi sulla distribuzione delle specie di Cu e Mn, in una matrice complessa come quella del latte. Si evidenzia in particolare il comportamento differente dei due metalli considerati.

OPINIONI ESPRESSE IN QUESTO DOCUMENTO SONO SOLE E SOLTANTO
DEI SUOI AUTOREI E NON RAPPRESENTANO IL PENSIERO
DELL'ISTITUTO ITALIANO DI SCIENZE E TECNOLOGIE

02/2017

2017

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200



Prima Sessione Poster

2017

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80

81

82

83

84

85

86

87

88

89

90

91

92

93

94

95

96

97

98

99

100

101

102

103

104

105

106

107

108

109

110

111

112

113

114

115

116

117

118

119

120

121

122

123

124

125

126

127

128

129

130

131

132

133

134

135

136

137

138

139

140

141

142

143

144

145

146

147

148

149

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

162

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

182

183

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

OFF-LINE SOLID-PHASE EXTRACTION WITH STYRENE-DIVINYLBENZENE CARTRIDGES FOR DETERMINING CHLORPYRIFOS IN WATER BY REVERSED-PHASE HIGH - PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH DIODE ARRAY DETECTION

G. Carlucci and P. Mazzeo

Dipartimento di Chimica, Ingegneria Chimica e Materiali - Università dell'Aquila - Via Vetoio - 67010 Coppito (AQ)

Chlorpyrifos, an organophosphorothioate insecticide, is frequently used in agriculture. Its chemical name is phosorothioic acid O,O-diethyl - O-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl)ester; its formula is shown in Figure 1. Because this compound may appear in environmental waters, efforts have been made to describe a reversed-phase high performance liquid chromatographic (HPLC) method for its determination in river waters.

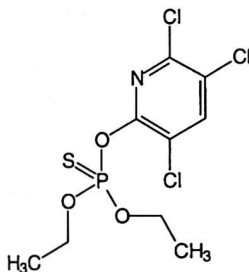


Figure 1

The use of photodiode-array detection is particularly appreciate as it enables the recording of chromatograms at the optimum wavelength for this compound, either according to its absorption maximum or after selection of an appropriate wavelength at which the effects of interference are minimized. Furthermore, comparison of UV spectra with those of reference compounds generally enables identification of the pesticide.

The objective of the present paper is the development of an off-line solid - phase extraction method for the determination of trace level of this pesticide in water samples and the establishment of analytical parameters such as linearity and limit of detection of the analytical method.

SVILUPPO DI UN METODO IMMUNOENZIMATICO CHEMILUMINESCENTE PER LA DETERMINAZIONE DI FARMACI AD AZIONE β -AGONISTA IN URINA BOVINA

¹*Anna Chiara Manetta*, ²*Francesco Piazza*, ³*Patrizia Simoni*, ¹*Rossella Lelli*, ¹*Giacomo Migliorati*, ²*Khaled Afandi* e ²*Aldo Roda*

¹*Istituto Sperimentale Zooprofilattico, Teramo*, ²*Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e* ³*Dipartimento di Medicina Interna e Gastroenterologia, Università di Bologna, Bologna*

Sebbene sia stata vietata dall' UE (direttiva 86/469) l'uso di farmaci β -agonisti (clenbuterolo, salbutamolo, fenoterolo etc...) come promotori della crescita in campo zootecnico, tuttavia essi sono ancora illecitamente utilizzati in molti allevamenti. Da qui la necessità di disporre di metodi analitici rapidi, specifici e sensibili, che possano essere utilizzati come screening preliminare per la determinazione di tali residui in carni ed urine di animali trattati con essi, prima di procedere alla conferma della loro presenza nei campioni mediante GC-MS, tecnica che richiede però lunghi e laboriosi pretrattamenti del campione.

A tal fine anticorpi specifici anti-clenbuterolo sono stati ottenuti per immunizzazione di conigli con un coniugato ovalbumina-clenbuterolo che è stato caratterizzato mediante spettrometria di massa con interfaccia elettrospray (ES-MS). Sono stati inoltre preparati due traccianti immunoenzimatici coniugando la perossidasi con lo stesso clenbuterolo o con il salbutamolo entrambi caratterizzati mediante ES-MS. Due diversi metodi immunoenzimatici in fase solida sono stati quindi messi a punto, uno di tipo omologo, per la determinazione specifica del clenbuterolo, l'altro, di tipo eterologo, per la classe generale dei β -agonisti. Gli anticorpi specifici prodotti sono stati immobilizzati su pozzetti microtiter di polistirene nero. Il complesso anticorpo-tracciante è stato rivelato mediante reazione chemiluminescente utilizzando luminolo/H₂O₂/amplificatore e un luminografo equipaggiato per la lettura simultanea di 96 pozzetti su piastra microtiter.

I dosaggi si sono dimostrati dotati della precisione ed accuratezza richieste, con un limite di rivelabilità di 12.5 pg per il clenbuterolo e di 500 pg nel caso della terbutalina e salbutamolo.

La rivelazione mediante chemiluminescenza oltre ad essere estremamente rapida (1 minuto), risulta essere più sensibile rispetto ai metodi colorimetrici convenzionali; infatti questo metodo ha mostrato di essere in grado di rivelare anche nuovi analoghi di β -agonisti recentemente utilizzati e di essere sufficientemente veloce per essere impiegato nei programmi di screening rapido.

ANALISI E CARATTERIZZAZIONE DI AFFRESCHI DEL II SECOLO D.C. CON TECNICHE DI ANALISI CHIMICA STRUMENTALE.

L. Campanella, M. Positano, M. Tomassetti

Dip. di Chimica, Università di Roma "La Sapienza", P.zza Aldo Moro 5, 00185 Roma.

Lo scopo di questo lavoro è stata un'indagine scientifica finalizzata alla caratterizzazione, al recupero e alla conservazione degli affreschi cosiddetti "della Stazione Termini" (fig. 1).

Per confrontare i risultati ottenuti riguardanti i materiali, i pigmenti e le tecniche che furono impiegate per realizzare gli affreschi della Stazione Termini, la ricerca è stata estesa ad altri due siti affrescati della stessa epoca: gli affreschi di "Via Eleniana" e di "Palazzo Barberini".

Gli affreschi della Stazione Termini appartengono a un grosso complesso edilizio, ritrovato nel 1947, in occasione di lavori di ampliamento della Stazione Termini e di costruzione della metropolitana. Gli affreschi furono frettolosamente staccati dalle pareti e trasportati al Museo Nazionale Romano prima che l'intero complesso fosse raso al suolo¹.

Gli altri campioni provengono da due differenti siti: uno dei quali è quello venuto alla luce in Via Eleniana, a Roma, dove nel corso di due distinte campagne di scavo, nel 1982 e nel 1984, vennero rinvenute una serie di strutture murarie affrescate, riferibili con molta probabilità, ad una ricca *domus* del II sec. D.C.; l'altro sito è quello di Palazzo Barberini, dove si trovano pareti affrescate rinvenute soltanto nei primi mesi del 1997.

La caratterizzazione di questi affreschi è proceduta attraverso tre fasi:

a) Analisi delle malte. A questo scopo le malte sono state caratterizzate innanzitutto mediante osservazione al microscopio ottico di apposite sezioni sottili. E' stato perciò possibile determinare la successione stratigrafica (pigmenti, intonachino, ariccio e i principali frammenti minerali contenuti nell'inerte). Questi ultimi sono stati confermati, dal punto di vista mineralogico, mediante diffrazione a raggi X, mentre, per mezzo dell'analisi termica (TG e DTA) è stato possibile identificare e determinare il contenuto in acqua e calcite delle malte degli affreschi considerati. I dati ottenuti hanno messo in evidenza che si tratta in tutti e tre i casi di malte pozzolaniche completamente carbonatate.

b) E' stata quindi eseguita l'analisi dei pigmenti servendosi della microscopia ottica, della diffrattometria a raggi X e della fluorescenza a raggi X. I principali pigmenti identificati sono stati: ocra rossa, ocra gialla, cinabro, fritta, oltre naturalmente al carbonato di calcio.

c) La presenza di evidenti tracce di sostanza organica sui reperti della Stazione Termini e non in quelli provenienti dagli altri due siti studiati, ha fatto supporre che queste tracce, in buona parte, siano da attribuire a collanti (gommalacca o colla cervione), residui delle affrettate operazioni di distacco e fissaggio cui gli affreschi di Termini furono sottoposti dopo il ritrovamento. A circoscrivere e comprovare questa ipotesi hanno contribuito soprattutto l'analisi DSC e la spettrofotometria FT-IR.



Fig. 1 Un tipico esempio degli splendidi affreschi del II secolo d.C., detti "della Stazione Termini"

DETERMINAZIONE DI MALTITOLO, ISOMALTITOLO E LATTITOLO IN PRODOTTI DIETETICI E NATURALI MEDIANTE HPAEC CON RIVELAZIONE AMPEROMETRICA PULSATA

Tommaso R. I. Cataldi, *Cristiana Campa e Paola Di Vito*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Potenza

Negli ultimi dieci anni la cromatografia a scambio anionico ad alta efficienza (HPAEC), accoppiata alla rivelazione amperometrica pulsata (PAD), si è imposta come la tecnica più sensibile, selettiva ed affidabile per la determinazione di carboidrati e alditoli presenti in campioni reali [1-3]. Gli alditoli derivati da disaccaridi come lattosio e maltosio stanno trovando sempre maggiore interesse come dolcificanti a basso contenuto calorico nell'industria dolciaria, per la preparazione di bevande e prodotti dietetici [4,5]. Tra questi composti, di crescente importanza vi sono il lattitolo, il maltitolo e l'isomalt, quest'ultimo costituito da una miscela equimolecolare di due isomaltitoli. L'interesse verso questi nuovi dolcificanti deriva da tutta una serie di caratteristiche che li rende più attraenti, sia rispetto ai dolcificanti sintetici (aspartame e saccarina) sia nei confronti dei comuni alditoli, come xilitolo, sorbitolo e mannitolo. Così, se i dolcificanti sintetici non possiedono adeguate caratteristiche di igroscopicità, stabilità e lavorabilità, gli alditoli dei monosaccaridi evidenziano un marcato effetto lassativo in taluni soggetti ed il loro impiego deve essere relativamente contenuto. Oltre ad essere impiegati largamente nell'industria alimentare dietetica, gli alditoli dei disaccaridi sembrano essere diffusi in natura; la comprensione del loro eventuale ruolo fisiologico nei vegetali risulterebbe notevolmente agevolata da una tecnica di analisi sensibile e accurata.

In questa comunicazione, si presentano i risultati relativi alla messa a punto di una metodica di determinazione di alditoli e carboidrati e soprattutto degli alditoli dei disaccaridi presenti in prodotti sia alimentari che naturali. La metodica si basa sulla separazione e rivelazione mediante HPAEC-PAD, con l'impiego di una colonna pellicolare a scambio anionico ed eluizione isocratica utilizzando una fase mobile composta da NaOH 40 mM addizionata di bario acetato 1 mM. L'eluente alcalino modificato con ioni bario consente un'ottima riproducibilità separativa, una migliore selettività e una più elevata sensibilità. È stato dimostrato recentemente che il Ba²⁺ determina una notevole riduzione del contenuto di carbonato, che precipita in larga parte nella riserva di fase mobile [6,7]. Da notare che anche lo stronzio e in parte il calcio mostrano lo stesso effetto del bario. Peraltro, tali ioni metallici sembrano essere debolmente complessati da alcuni carboidrati anche in ambiente basico [6,7]. Le condizioni di analisi impiegate hanno permesso di ottenere tempi di analisi relativamente brevi, anche per i disaccaridi di prodotti vegetali, grazie alla presenza di acetato in fase mobile ed alla colonna prescelta, dotata di una capacità di scambio anionico più bassa (90 µeq) rispetto alle colonne a resina polimerica macroporosa (1.45 meq), tradizionalmente impiegate per l'analisi degli alditoli [2,3].

L'efficienza e la versatilità della metodica ottimizzata hanno consentito un'accurata quantificazione del maltitolo, lattitolo, isomalt ed altri carboidrati, in alcuni prodotti naturali, quali la cicoria e il malto tostato, e prodotti dell'industria dolciaria dietetica, come caramelle, crema, cioccolato e pan di Spagna per i soggetti diabetici. La presenza del bario ha consentito una sensibilità di rivelazione piuttosto elevata, nonostante la bassa concentrazione di ioni idrossido nell'eluente, con limiti di rivelabilità compresi tra i 10-20 pmoli per 10 µl iniettati.

- 1) Johnson, D.C., LaCourse, W.R. *High Performance Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis*. In *Carbohydrate Analysis*. El Rassi, Z., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 1995; Capitolo 10.
- 2) Corradini, C., Canali, G., Cogliandro, E., Nicoletti, I., *J. Chromatogr.*, A, 791, (1997) 343.
- 3) Cataldi, T.R.I., Margiotta, G., Zambonin, C.G., *Food Chem.*, 62 (1998) in stampa.
- 4) Rapaille, A., Gonze, Van der Schueren, *Food Technol.*, July (1995) 51.
- 5) Blankers, I., *Food Technol.*, January (1995) 66.
- 6) Cataldi, T.R.I., Centonze, D., Margiotta, G., *Anal. Chem.*, 69 (1997) 4842.
- 7) Cataldi, T.R.I., Campa, C., Margiotta, G., Bufo, S.A., *inviato*.

ANALISI DI METALLOPORFIRINE MEDIANTE CROMATOGRAFIA LIQUIDA- SPETROMETRIA DI MASSA CON INTERFACCIA PARTICLE BEAM

MAGI Emanuele, IANNI Carmela, FRACHE Roberto

Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale, Università di Genova

Le porfirine sono composti di notevole importanza biologica, il cui nucleo centrale è costituito dalla porfina, un macrociclo tetrapirrolico. Una delle principali caratteristiche delle porfirine è quella di formare complessi interni, chelando un atomo metallico. Si generano in questo modo centri attivi che interessano diversi processi biochimici.

Dal punto di vista ambientale i complessi più noti delle porfirine sono quelli con nichel e vanadio che si ritrovano nel petrolio, nelle rocce e nei sedimenti. Il comportamento geochimico di queste sostanze, in particolare nell'ambiente marino, è tuttora scarsamente conosciuto e, benchè siano considerate dei possibili markers "paleoambientali", il loro impiego in tal senso è stato finora piuttosto limitato dalla mancanza di tecniche analitiche adeguate.

Gli studi più recenti per la determinazione delle metalloporfirine prevedono l'impiego di tecniche accoppiate: lo scopo di questo lavoro è la messa a punto di una nuova metodica che sfrutti l'accoppiamento cromatografia liquida-spettrometria di massa con interfaccia particle beam (LC-PB-MS). L'impiego di questa tecnica, con la quale abbiamo recentemente ottenuto buoni risultati nello studio di altri composti organometallici, consente di ricavare importanti informazioni strutturali sugli analiti o, nel migliore dei casi, la loro identificazione in quanto si ottengono spettri di impatto elettronico confrontabili con quelli di libreria.

Abbiamo preso in considerazione quattro porfirine: tetrafenilporfina vanadio, octaetilporfina vanadio, octaetilporfina nichel, octaetilporfina. E' stata messa a punto la separazione mediante cromatografia liquida ad elevate prestazioni con una colonna RP-18. Si è utilizzata una miscela metanolo-acetonitrile -acqua come eluente, operando in gradiente di concentrazione. In questa fase del lavoro il detector impiegato è stato di tipo UV-Vis (diode array) con il quale sono stati ottenuti buoni limiti di rivelabilità e buona linearità per ciascun composto.

Si è quindi passati all'ottimizzazione dell'interfaccia PB: sono stati accuratamente testati i principali parametri che influenzano la sensibilità dello spettrometro di massa, ottenendo interessanti risultati (ad esempio la temperatura della camera di nebulizzazione del PB gioca un ruolo di notevole importanza). Viene presentato infine il risultato dell'analisi di una miscela dei quattro composti considerati, ottenuto con la tecnica LC-PB-MS.

Attualmente il lavoro sta procedendo per verificare l'applicabilità della metodica a matrici reali, quali i sedimenti.

- 1) L.Ebdon, E.H. Evans, W.G.Pretorius, S.J.Rowland, *J.Anal.At. Spectrom.*, 1994, 9, 939
- 2) M.J.Dale, K.F.Costello, A.C.Jones, P.R.Langridge-Smith, *J.Mass Spectrom.*, 1996, 31, 590
- 3) U.Kumar, J.G.Dorsey, J.A.Caruso, *J.Chromatogr.Sci.*, 1994, 32, 282
- 4) E.Magi, C.Ianni, *Anal.Chim.Acta*, 1998, 359, 237
- 5) W.G.Pretorius, L.Ebdon, S.J.Rowland, *J.Chromatogr.*, 1993, 646, 369
- 6) A.Rosell-Melè, J.R.Maxwell, *Rapid Commun.Mass Spectrom.*, 1995, 10, 209
- 7) P.Sundaraman, C.Vestal, *Org.Geochem.*, 1993, 20, 1099

INTERAZIONI POLIANIONE-POLIAMMINA PROTONATA: INTERESSE NELLA SPECIAZIONE DI FLUIDI NATURALI

Alessandro De Robertis^{a)}, Concetta De Stefano^{a)}, Claudia Foti^{a)}, Antonio Gianguzza^{b)}
e Silvio Sammartano^{a)}

^{a)} Dipartimento di Chimica Inorganica, Chimica Analitica e Chimica Fisica dell'Università,
Salita Sperone 31, I-98166 Messina (Vill. S. Agata)

^{b)} Dipartimento di Chimica Inorganica dell'Università, Via Archirafi 26, I-90123, Palermo

I polianioni inorganici ed organici formano specie complesse con le poliammine protonate aventi stabilità strettamente dipendente dalle cariche messe in gioco nella reazione di formazione. Ciò comporta che, essendo i polianioni e le poliammine sempre presenti nei fluidi naturali ed in particolare nei fluidi biologici, la formazione di queste specie deve essere attentamente presa in considerazione negli studi relativi alla speciazione di tali fluidi.

Abbiamo studiato un notevole numero di sistemi costituiti da poliammine lineari di formula generale $C_{(2n-2)}N_nH_{(5n-2)}$ con $n = 2...6$; da poliammine biogeniche, come cadaverina, putrescina, spermidina e spermina, e da diammine lineari di formula generale $NH_2-(CH_2)_x-NH_2$ con $x = 2...8$, con polianioni inorganici (SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , $P_2O_7^{4-}$, $P_3O_{10}^{5-}$, $Fe(CN)_6^{4-}$) ed organici (acidi di-, tri-,..., esa- policarbossilici). Recentemente abbiamo discusso in una review [1] degli aspetti più importanti relativi alla formazione di questi complessi anionici, prendendo in considerazione una buona parte dei sistemi studiati. In quest'ultimo anno abbiamo in particolare studiato le interazioni fra bioammine e polianioni di interesse biologico, allo scopo di stabilire il possibile effetto della formazione di questi complessi nella speciazione di fluidi naturali e biologici [2,3].

Riportiamo ora i risultati relativi alla formazione di complessi fra spermina e spermidina con anioni di acidi policarbossilici e polianioni inorganici, ove si dimostra che:

- la carica dei leganti costituisce il fattore determinante della stabilità;
- l'influenza della geometria dei leganti (ed in particolare dell'ammina) sulla stabilità è di minore importanza, ma significativa;
- queste specie spesso si formano a concentrazioni molto basse, quali quelle dei fluidi biologici. Misure calorimetriche dirette fanno rilevare che:
- il fattore entropico è determinante;
- anche il termine $T\Delta S^0$ dipende linearmente dalle cariche dei leganti.

- P.G. Daniele, E. Prenesti, A. De Robertis, C. De Stefano, C. Foti, O. Giuffrè e S. Sammartano, *Ann. Chim.*, **87**, 415 (1997).
- A. De Robertis, C. De Stefano, A. Gianguzza e S. Sammartano, *Talanta*, **45**, 000 (1998).
- C. De Stefano, A. Gianguzza, R. Maniaci, D. Piazzese e S. Sammartano, *Talanta*, **45**, 000 (1998).

MODIFICHE DEL SISTEMA DI ATOMIZZAZIONE E DI ALIMENTAZIONE PER IL MIGLIORAMENTO DI MISURE SENZA STANDARDS IN SPETTROSCOPIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO ELETTROTHERMICO

G. Torsi, C. Locatelli, P. Reschiglian e D. Di Cintio.

Dipartimento. di Chimica. G. Ciamician - Via Selmi 2 - 40126 - Bologna.

E' stato da noi dimostrato che è possibile, applicando la legge di Lambert-Beer, fare misure senza standard in Spettroscopia di Assorbimento Atomico ElettoTermico (ElectroThermal Atomic Absorption Spectroscopy - ETAAS).

Le misure sperimentali hanno tuttavia evidenziato che con l'apparecchiatura utilizzata non si potevano analizzare elementi di media e bassa volatilità, perché non si raggiungeva la presenza contemporanea nell'atomizzatore di tutti gli atomi dell'analita presente nel campione, che è una delle condizioni necessarie per una facile misura senza standard. Il raggiungimento di questa condizione per il più alto numero possibile di elementi è lo scopo della nostra ricerca.

Assumendo che la rimozione degli atomi dell'analita sia dovuta soltanto alla diffusione, buoni risultati si possono ottenere aumentando la velocità di riscaldamento, la lunghezza degli atomizzatori e la pressione del gas inerte nello stadio di evaporazione.

Lo studio volto a valutare la direzione delle modifiche da apportare al sistema in termini di complessità dei componenti elettromeccanici e di costi-benefici, ci ha indirizzato a modificare il sistema di atomizzazione e, in minima parte, di alimentazione. In particolare non abbiamo privilegiato un aumento della velocità di riscaldamento, già oltre i 10.000 K/s, ma l'aumento della lunghezza del tubo di grafite, da 36 a 50 mm, e la diminuzione del coefficiente di diffusione passando da 1 a 3 atmosfere durante lo stadio di atomizzazione.

E' stato riscontrato che l'aumento della lunghezza del tubo di grafite non porta a benefici consistenti mentre invece l'aumento di pressione permette di ottenere buoni risultati. Il quadro che ne deriva fa pensare che l'atomizzazione veloce dovuta al forte aumento di temperatura porta con se un forte riscaldamento ed una conseguente forte espansione del gas inerte che per convezione rimuove gli atomi dal cammino ottico.

Ne deriva quindi che gli interventi sul sistema di atomizzazione dovranno concentrarsi sulla riduzione degli effetti del riscaldamento dei gas presenti o generati nello stadio di atomizzazione.

SVILUPPO DI BIOSENSORI AMPEROMETRICI PER IL GLUCOSIO BASATI SU DEPOSIZIONE ENZIMATICA ELETTROFORETICA E FILM PERMSELETTIVI ELETTROSINTETIZZATI.

Antonio Guerrieri, Rosanna Ciriello e Alessandra Salernitano

Dipartimento di Chimica, Università della Basilicata, via N. Sauro 85, 85100 POTENZA, ITALY
e-mail: guerrieri@unibas.it

La ben nota metodica di immobilizzazione enzimatica mediante intrappolamento in film polimerici elettrosintetizzati, la cosiddetta *electrochemical immobilization* [1], per quanto vantaggiosa nella realizzazione di biosensori amperometrici di dimostrata efficacia, non è esente da taluni problemi quali l'incompatibilità chimica e/o elettrostatica di diversi enzimi con alcuni polimeri [1-3], la necessità di un adsorbimento significativo e non denaturante dell'enzima sulla superficie dell'elettrodo [4-5] e la degradazione dei polimeri stessi [6-7].

Una risposta parziale alle problematiche su descritte si è recentemente ottenuta con lo sviluppo di un approccio "ibrido" [8] nel quale i vantaggi derivanti dall'uso dei metodi di immobilizzazione classica si combinano con quelli caratteristici dei polimeri elettrosintetizzati permselectivi. A tale scopo, il metodo di immobilizzazione usualmente utilizzato è l'*enzyme co-crosslinking* [9] con una proteina inerte, ad es. albumina di siero bovina (BSA), mediante un agente legante bifunzionale quale la glutaraldeide (GLU). Sebbene permetta la realizzazione di biosensori con ottime performances quali elevata sensibilità conseguente l'alto carico enzimatico, buon range lineare ed eccellenti caratteristiche di reizione degli interferenti tali da permettere l'analisi di campioni reali, sfortunatamente tale metodica non risolve completamente le problematiche qui citate. Infatti l'immobilizzazione, essendo in questo approccio del tipo *enzyme casting* [9], comporta gli svantaggi associati alle metodiche classiche quali scarso controllo della distribuzione spaziale dell'enzima e dello spessore dello strato depositato.

La presente relazione intende illustrare alcuni risultati salienti, ottenuti nel laboratorio degli autori, relativi a biosensori amperometrici per il glucosio realizzati mediante una nuova metodica di immobilizzazione enzimatica qui indicata come deposizione elettroforetica (*electrophoretic protein deposition*). Questa tecnica permetterebbe l'*enzyme co-crosslinking, in-situ* sulla superficie elettrodica, assistito elettrochimicamente con il duplice intento di ovviare gli inconvenienti su citati e di ottenere di contro i vantaggi offerti dalla *electrochemical immobilization*.

Biosensori a glucosio ossidasi (GOD) sono stati realizzati applicando ad un elettrodo di Pt immerso in una soluzione contenente l'enzima, BSA e GLU, un'opportuna sequenza di impulsi di potenziale o di corrente. L'impiego di una corretta perturbazione elettrodica permette, come conseguenza di meri processi elettroforetici, la concentrazione delle molecole di GOD e BSA in prossimità della superficie elettrodica ed il conseguente *co-crosslinking in-situ* sull'elettrodo. Uno studio della tecnica elettrochimica impiegata e di alcuni parametri chimici salienti quali concentrazione delle proteine e del legante, pH e forza ionica del tampone ha permesso di ottimizzare le performances dei biosensori sviluppati in termini di sensibilità, stabilità, distribuzione del deposito proteico e suo spessore. In particolare, una loro caratterizzazione elettroanalitica ha messo in evidenza uno spiccato controllo diffusivo, facilmente modulabile sperimentalmente.

La realizzazione di biosensori al glucosio "interference- e fouling-free", infine, è stata ottenuta attraverso l'approccio "ibrido" di codeposizione di film permselectivi elettrosintetizzati. In questo contesto, sono stati utilizzati e studiati svariati polimeri non conduttori noti in letteratura quali poliotofenilendiammina, polifenolo, polinaftolo e polioortoamminofenolo. In particolare si è osservato che l'elettrosintesi di questi polimeri può essere condotta sia prima della deposizione elettroforetica sia direttamente sull'elettrodo modificato con lo strato proteico senza alcuna modificazione significativa delle caratteristiche catalitiche del biosensore. Le caratteristiche antiinterferenziali osservate con questi dispositivi giustificano una loro futura applicazione nell'analisi di campioni reali.

- 1) Bartlett, P.N. & Cooper, J.M., *J. Electroanal. Chem.*, **362**, (1993), 1-12
- 2) Palmisano, F., Guerrieri, A., Quinto, M. & Zambonin, P.G., *Anal. Chem.*, **34**, (1995), 1005-1009
- 3) Pantano, P. & Kuhr, W.G., *Electroanalysis*, **7**, (1995), 405-416
- 4) Bartlett, P.N. & Whitaker, R.G., *J. Electroanal. Chem.*, **224**, (1987), 37-48
- 5) De Benedetto, G.E., Malitesta C. & Zambonin, C.G., *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **90**, (1994), 1495-1499
- 6) Geise, R.J., Adams, J.M., Barone, N.J. & Yacynych, A.M., *Biosensors & Bioelectronics*, **6**, (1991), 151-160
- 7) Centonze, D., Guerrieri, A., Malitesta, C., Palmisano F. & Zambonin, P.G., *Ann. Chim. (Rome)*, **82**, (1992), 219-234
- 8) Guerrieri, A., De Benedetto, G.E., Palmisano, F. & Zambonin, P.G., *Biosensors & Bioelectronics*, **13**(1), (1998) 103-112
- 9) Guerrieri, A., De Benedetto, G.E., Palmisano, F. & Zambonin, P.G., *The Analyst*, **120**, (1995), 2731-2736

VOLUMETRIC BEHAVIOUR OF 1,2-ETHANEDIOL + 2-METHOXYETHANOL + WATER TERNARY SYSTEM

G.C. Franchini, A. Marchetti, L. Tassi, A. Ulrici, G. Vaccari

Department of Chemistry, University of Modena, via G. Campi 183, 41100 Modena (Italy)

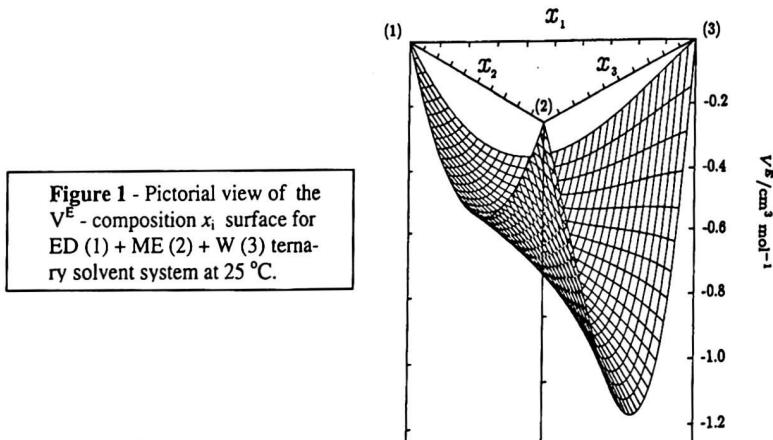
Among thermophysical properties of liquid systems, it is well established that density, and related volumetric quantities, play a very effective role in determining the micro- and macroscopic behaviour of liquid solutions (either electrolytic or not). Following our long-term research interests in this field,^{1,2} densities were measured for 1,2-ethanediol (ED, component 1) + 2-methoxyethanol (ME, 2) + water (W, 3) ternary solvent system, employing 66 three-component mixtures covering the whole miscibility range $0 \leq x_1, x_2, x_3 \leq 1$, and working at 19 temperatures in the interval $-10 \leq t/^\circ\text{C} \leq 80$ with thermal scansion of 5°C .

The experimental ρ values have been used to test some empirical fitting equations giving the dependence $\rho = \rho(t)$ and $\rho = \rho(x_i)$, in order to check their suitability to provide the unmeasured values in correspondence of the experimental data gaps. All the selected model eqns well satisfy these requirements.

A suitable measure of the departure of the volumetric behaviour for mixed solvent systems from ideality is represented by means of the excess molar volume ($V^E/\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$). On the whole, we have applied the following best-fit eqn³

$$V^E = d_1x_1x_2 + d_2x_2x_3 + d_3x_1x_3 + d_4x_1x_2(x_2 - x_1) + d_5x_2x_3(x_3 - x_2) + d_6x_1x_3(x_3 - x_1) + d_7x_1x_2x_3$$

in order to represent the trend of the excess function. The above eqn shows that the excess molar volume of these ternary mixtures (which is always negative at all experimental conditions) could be mainly represented as a sum of contributions due to the three binary subsystems. The overall mixing ternary effects could be contained into the d_7 adjustment coefficient, which modulates the V^E quantity on the basis of all the three mole fractions. In any case, the absence of singular points such as minima or maxima in the ternary function domain (other than those detected along binary axis, see Figure 1) at all experimental conditions, proves that there is no stable three-component complex adduct in these nonelectrolytic aqumixed solutions.



- 1) F.Corradini, G.C. Franchini, A.Marchetti, L.Tassi, *Bull. Chem. Soc. Jpn*, **68**, 1867 (1995).
- 2) F.Corradini, G.C. Franchini, A.Marchetti, L.Tassi, *Can. J. Chem. Eng.*, **75**, 819 (1997).
- 3) A.Marchetti, L.Tassi, Thermophysics of multicomponent nonelectrolytic solutions, in "*Research Trends - Current Topics in Solution Chemistry*", R. Richard (Ed.), Vol. 2, 63-82 (1997).

THERMODYNAMIC BEHAVIOUR OF PICRIC ACID AND SODIUM PICRATE IN 2-METHOXYETHANOL

G.C. Franchini, A. Marchetti, L. Tassi, A. Ulrici, G. Vaccari

Department of Chemistry, University of Modena, via G. Campi 183, 41100 Modena (Italy)

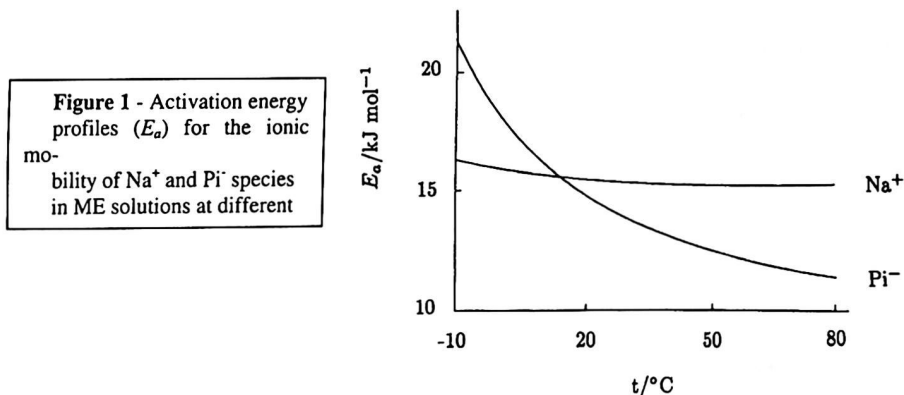
Thermodynamic behaviour of electrolytic solutions containing picric acid (HPi), sodium picrate (NaPi) and some reference electrolytes such as NaBPh₄ (STB), Ph₄PBr (TPB) and NaBr dissolved in 2-methoxyethanol (ME) has been investigated at 19 temperatures in the range $-10 \leq t/^\circ\text{C} \leq 80$, working by conductometric method.^{1,2} These solutes, all ionophores except HPi which is ionogen, tend to form ion-pairs in these solutions because the low static dielectric constant of the solvent.³

The experimental conductometric data have been analyzed by means of the more general Fuoss-Hsia eqn:¹

$$\Lambda = \Lambda_0 - S(C\alpha)^{1/2} + EC\alpha \log(C\alpha) + J_1 C\alpha + J_2 (C\alpha)^{3/2} - K_A C\alpha \gamma_{\pm}^2 \Lambda$$

This model provides three fundamental parameters such as: the ion-pair association constant $K_A/\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3$ (dissociation constant $K = K_A^{-1}$), the limiting molar conductance ($\Lambda_0/\text{cm}^2 \text{ S mol}^{-1}$), and the fitting interionic distance parameter (a/A).

Furthermore, working with the reference electrolytes in the same experimental conditions, it was possible to determine the absolute ionic mobilities of all the ionic species, on the basis of the assumption $\lambda_0^+(\text{Ph}_4\text{P}^+) = \lambda_0^-(\text{BPh}_4^-)$ at all the temperatures. In particular, it was possible to investigate the ionic mobility, and some related properties such as the activation energy for the ionic mobility (Figure 1), of the studied electrolytes and of the effimeral species H^+ (free H^+ ?, $\text{H}^+\cdot\text{ME}$?, ...) in the choosen nonaqueous solvent.



SEPARAZIONE DI GRANULI DI AMIDO MEDIANTE CELLE SPLITT

Catia Contado, Francesco Dondi

Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, Via L. Borsari 46, I-44100 Ferrara (Italy)

L'amido è uno dei polisaccaridi più abbondanti in natura; è una materia prima poco costosa e per questo di grande importanza economica. Le dimensioni dei granuli di amido sono un fattore determinante nella qualità di molti prodotti derivati [1]. A livello molecolare, l'amido si presenta come una miscela di polimeri amilosio e amilopectina, quest'ultima ha un peso molecolare più elevato rispetto al primo ed è altamente ramificata. Microscopicamente, le dimensioni dei granuli sono comprese tra 1 e 55 μm , a seconda del tipo di amido. Per rispondere alla richiesta industriale di caratterizzazione dei granuli di amido, molte sono le tecniche generalmente utilizzate [2].

In questo lavoro le celle SPLITT [3] sono proposte come strumenti preparativi per separare un campione di amido di frumento in tre frazioni dimensionali. Le dimensioni dei granuli costituenti le frazioni sono state osservate mediante microscopia ottica. Per ottenere una descrizione più accurata dei risultati della separazione preparativa in termini di distribuzione dimensionale delle frazioni ottenute, si è utilizzata la Sedimentation/Steric Field Flow Fractionation [4]. Lo strumento SdFFF è stato calibrato con campioni di PS standard ed è stato utilizzato per i campioni di amido applicando il metodo della compensazione di densità [5, 6]. Sono state provate due diversi tipi di fasi mobili ed i risultati corrispondenti sono stati commentati.

- 1) Hanselmann R., Burchard W., Ehrat M., Widmer H.M., *Macromolecules*, **29**, 3277-3282, (1996)
- 2) Whistler R., BeMiller J.N., Paschall E.F., "Starch - Chemistry and Technology", Academic Press, N.Y., (1984)
- 3) Contado C., Dondi F., Beckett R., Giddings J.C., *Anal. Chim. Acta*, **345**, 99-110, (1997).
- 4) Contado C., Blo G., Fagioli F., Dondi F., Beckett R., Giddings J.C., *Colloids and Surf.A*, **120**, 47-59, (1997).
- 5) Giddings J.C., Moon M.H., Williams P.S., Myers N.M., *Anal. Chem.* **63**, 1366-1372 (1991).
- 6) Moon M.H., Giddings J.C., *J. of Food Science*, **58**, 1165-1171, (1993)

BIOSENSORI PER LA RILEVAZIONE ELETTROCHIMICA DI BIOTOSSINE

S. Sušmel, M. Mascini

Università degli Studi di Firenze

Dipartimento di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale

Sez. Chimica Analitica Via G. Capponi, 9-50121 Firenze

Le Aflatossine sono metaboliti secondari di origine fungina caratterizzati da una elevata tossicità. L'aflatossina B1 viene catalogata come il più potente epatocarcinogeno naturale. Il loro monitoraggio risulta interessante ai fini della valutazione della salubrità dell'alimento nonché ai fini della valutazione delle condizioni di conservazione dello stesso.

I saggi immunoenzimatici (ELISA) rappresentano un'area di ricerca in espansione nel campo della chimica analitica per la loro rapidità, precisione, velocità e semplicità di esecuzione (1).

Per ottenere la configurazione finale del saggio competitivo si è proceduto alla ottimizzazione delle varie fasi secondo il seguente protocollo: a) fase di immobilizzazione per adsorbimento dell'antigene-BSA (aflatossina B1-BSA sciolta in tampone Dulbecco) su piastre da microtitolazione in polistirene a 96 pozzetti; b) fase di competizione: questa prevede una fase di "incubazione" in soluzione e la fase di competizione vera e propria su fase solida. In fase di "incubazione" l'antigene (aflatossina B1 solubilizzata in solvente organico) è posto in contatto con l'anticorpo specifico (diluito in tampone Dulbecco) per un tempo definito, successivamente un volume noto di tale soluzione è posto nei pozzetti per la fase di competizione. La competizione si verifica fra aflatossina B1 in soluzione e l'aflatossina B1 legata alla fase solida per i siti di legame dell'anticorpo specifico; c) fase di legame fra anticorpo specifico e anticorpo secondario marcato con fosfatasi alcalina (diluito in tampone Etanolamina 0.1M + NaCl 150 mM + MgCl₂ 1mM pH 9) e misura dell'attività enzimatica residua in fase solida.

Le varie fasi sono seguite da tre lavaggi con una soluzione di tampone Dulbecco + tween 20 al 0.5%.

Ottimizzate le quantità dei reagenti si procede alla realizzazione del saggio competitivo in cui per via spettrofotometrica (p-nitrofenil-fosfato) si misura la variazione del segnale in funzione della variazione della concentrazione di aflatossina B1 in soluzione (2). L'andamento tipico di un saggio competitivo prevede una variazione del segnale inversamente proporzionale rispetto alla concentrazione dell'antigene (aflatossina B1) in soluzione, ovvero presente nel campione.

Si è voluto sviluppare un procedimento elettrochimico per la misura dell'attività della fosfatasi alcalina compatibile con il saggio descritto.

Tramite voltammetrie idrodinamiche con elettrodo glassy carbon ed un procedimento in FIA (flow injection analysis) si sono stabilite le migliori condizioni operative al fine della valutazione dell'attività della fosfatasi alcalina. Sono stati considerati due substrati: 1-naftil-fosfato e 4-amminofenil-fosfato. L'enzima idrolizza gli esteri del fosfato liberando rispettivamente 1-naftolo e 4-amminofenolo che si ossidano alla superficie dell'elettrodo polarizzato. I potenziali di lavoro sono + 400 mV per l'1-naftolo e + 250 mV per il 4-amminofenolo rispetto ad un elettrodo di riferimento Ag/AgCl. Viene preferito il 4-amminofenolo/4-amminofenil-fosfato in quanto consente di lavorare ad un potenziale inferiore rispetto al naftolo, il limite di rilevazione nelle condizioni di lavoro ottimizzate è $1.3 \cdot 10^{-7}$ M inoltre non si osservano fenomeni di avvelenamento della superficie dell'elettrodo (3).

Combinando il saggio su piastra precedentemente caratterizzato con l'uso del substrato 4-amminofenil-fosfato è stato realizzato un saggio immunoenzimatico elettrochimico di tipo competitivo per aflatossina B1.

- 1) Del Carlo M., Mascini M., *Analytica Chimica Acta* 336 (1996) 167.
- 2) Pesavento M., Domagala S., Baldini E., Cucca L., *Talanta* 45 (1997) 91-104
- 3) Thompson R.Q., Porter M., Stuver C., Halsall H.B., Heineman W.R., Buckley E., Smyth M.R. *Analytica Chimica Acta* 271 (1993) 223-229.

IMPIEGO DELL'ANALISI MULTIVARIATA NELLA OTTIMIZZAZIONE DELL'ESTRAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI LIBERI DEL PARMIGIANO-REGGIANO

M. Careri, A. Mangia, G. Mari, M. Musci

Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università di Parma, Viale delle Scienze, 43100 Parma, Italy

Sono stati impiegati metodi di disegno sperimentale e di analisi statistica multivariata (Analisi delle Componenti Principali, Analisi Cluster) per lo studio dei parametri che risultano influenzare il metodo dell'estrazione-distillazione simultanea (SDE). Tra le tecniche utilizzate per l'isolamento di sostanze volatili, il metodo SDE basato sull'impiego dell'estrattore Likens-Nickerson, consente anche l'estrazione di composti semivolatili e la loro simultanea concentrazione in un ridotto volume di solvente organico, rendendo minima la manipolazione del campione e la formazione di artefatti [1]. A seconda degli analiti in esame, la resa di estrazione può essere tuttavia differente in funzione di parametri sperimentali, quali il tempo di estrazione e le temperature di esercizio.

Scopo del presente lavoro è stato valutare l'effetto di tre variabili (tempo di estrazione, temperatura del solvente di estrazione, temperatura del campione) sulla resa di estrazione di 13 acidi grassi da C4:0 a C16:0, applicando la tecnica SDE ad un campione di formaggio Parmigiano-reggiano ed effettuando una successiva analisi gascromatografica. Tra le diverse strategie di ottimizzazione, è stato scelto il disegno sperimentale centrale composito a facce centrate, dal momento che questo consente, con un numero relativamente limitato di prove, di valutare sia gli effetti principali delle variabili considerate, che gli effetti di curvatura e di interazione [2]. Nel caso in esame, essendo il numero di prove pari a $2^k + 2k + C$, dove k è il numero delle variabili e C il numero dei replicati al punto centrale, sono stati eseguiti 20 esperimenti di cui 6 replicati al punto centrale; ogni fattore è stato esaminato a 3 livelli.

I dati ottenuti (aree dei picchi gascromatografici) sono stati sottoposti ad analisi di regressione multipla, allo scopo di creare un modello matematico in grado di rappresentare le relazioni tra i fattori e le risposte cromatografiche e di determinare le condizioni ottimali per il procedimento adottato. I modelli ottenuti sono stati affinati attraverso l'eliminazione successiva dei coefficienti non significativi ($p > 0.05$). Sulla base di set di termini della regressione risultati significativi è stato possibile raggruppare gli acidi in esame in 7 gruppi di composti aventi un comportamento simile rispetto alle variabili in esame.

Lo stesso tipo di modelli è stato individuato effettuando l'Analisi delle Componenti Principali (PCA) sui 13 acidi (oggetti) e sui valori t di Student dei coefficienti della regressione dei modelli originali (variabili) e sottoponendo poi all'Analisi Cluster i valori delle prime due Componenti dei 13 acidi. L'utilizzo dei valori di t dei coefficienti per il raggruppamento di oggetti è a nostro parere nuovo e particolarmente utile, poiché essi sono adimensionali e, mantengono il segno dei coefficienti, e, se riferiti ad uno stesso numero di gradi di libertà, discriminano facilmente quelli significativi. Inoltre il raggruppamento con l'Analisi delle componenti Principali e successiva Analisi Cluster, non è influenzato né dalla scelta del livello di significatività al quale un termine è eliminato né dal modo con cui i coefficienti vengono scartati (ad esempio "forward" o "backward").

Infine, per ogni classe di composti sono state valutate le migliori condizioni di analisi. E' da osservare come, nonostante le differenti caratteristiche di volatilità e solubilità dei composti considerati, sia stato possibile individuare le condizioni operative ottimali per la loro estrazione.

L'utilità dell'impiego del disegno sperimentale cubico a facce centrate per l'ottimizzazione della tecnica SDE per l'estrazione degli acidi grassi è evidenziata dalla presenza di effetti di curvatura nonché di interazioni significative tra alcuni fattori sperimentali (ad esempio tra il tempo di estrazione e la temperatura del campione). A causa di questi ultimi l'applicazione di un approccio tradizionale, quale quello di considerare i fattori in modo non simultaneo, avrebbe portato ad erronee conclusioni.

- 1) H.T. Badings, C. De Jong, R.P.M. Dooper, R.C.M. De Nijs, in *Progress in Flavor*, Elsevier, Amsterdam, 1984.
- 2) R.G. Brereton, in *Chemometrics*, Ellis Horwood, Chichester, 1993.

DETERMINAZIONE DELL' ATTIVITA' ANTICOLINESTERASICA USANDO UN BIOSENSORE AMPEROMETRICO IN CAMPIONI REALI

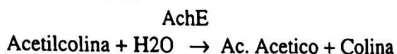
S. Hernández, M. Mascini

Università degli Studi di Firenze

Dipartimento di Sanità Pubblica, Epidemiologia e Chimica Analitica Ambientale

Sez. Chimica Analitica Via G. Capponi, 9 - 50121 Firenze

Nel nostro laboratorio è stato messo a punto un biosensore monouso per la colina, ottenuto immobilizzando sulla superficie elettrodica l'enzima Colina Ossidasi. Quest'enzima catalizza la trasformazione della colina in betaina e acqua ossigenata che si ossida sulla superficie dell'elettrodo polarizzato a +700 mV vs Ag/AgCl. Il biosensore a colina è stato utilizzato per valutare l'attività dell'enzima acetilcolinesterasi in soluzione. Tale enzima idrolizza l'acetilcolina secondo la reazione:



L'attività dell'AChE viene influenzata dalla presenza di inibitori quali i pesticidi organofosforici e carbammici. Queste sostanze sono ampiamente usate nell'agricoltura perché hanno una bassa persistenza, tuttavia presentano tossicità acuta per l'uomo. Il biosensore a colina da noi realizzato è stato utilizzato per il monitoraggio dei pesticidi nei campioni di acqua di fiume. Incubando l'AChE con tali sostanze si registra una diminuzione dell'attività rispetto ad una prova effettuata in assenza di inibitore. Tale diminuzione è proporzionale alla concentrazione di pesticida presente. Il biosensore realizzato è costituito da un sistema di tre elettrodi stampati monouso: l'elettrodo di lavoro è grafite con Rutenio, l'elettrodo ausiliario Ag ed l'elettrodo di riferimento Ag/AgCl. Sull'elettrodo di lavoro è stato immobilizzato per adsorbimento l'enzima Colina Ossidasi (0.15 mg). Nella soluzione del campione, diluito 1:1 con tampone borato e KCl a pH 9.0 viene aggiunto l'Acetilcolinesterasi (2 U / ml). I risultati ottenuti sono confrontati con un biosensore costituito da un elettrodo di Pt ricoperto da tre membrane: la prima, in contatto con l'elettrodo, è di acetato di cellulosa (MWCO 150), che lo protegge da interferenze elettrochimiche; la seconda è una membrana preattivata Immobilon sulla quale è stato immobilizzato covalentemente la Colina Ossidasi (0,4 mg) usando glutaraldeide e BSA; la terza è di policarbonato (MWCO 15000), che protegge l'enzima dai batteri. Con questo sistema la soluzione del campione è diluita 1:1 con tampone di fosfato e KCl a pH 7.5 (1).

Il biosensore viene incubato con il campione o la soluzione standard di Carbofurano (pesticida di riferimento) per un tempo fisso, dopo il quale si aggiunge l'acetilcolina. Trascorsi 2 minuti dall'aggiunta, si misura la corrente (i); in parallelo viene effettuato un bianco in assenza di inibitore, misurando anche in questo caso la corrente (i_0).

L'inibizione viene espressa come inibizione percentuale: $I\% = \frac{i_0 - i}{i} \cdot 100$

Il biosensore monouso, rispetto a quello di Pt, necessita di un minore tempo di incubazione (10 minuti), presenta un limite di rilevabilità più basso (10^{-9} M), però ha una bassa riproducibilità, con un CV 16% (8 misure utilizzando la soluzione standard di Carbofurano 10^{-9} M).

Sono stati analizzati campioni di acqua di fiume e potabile durante l'anno '97. Nei campioni della primavera si sono trovate percentuali di inibizione tra 10 e 30 % nell'acqua di fiume, che corrispondono a concentrazioni di 10^{-9} - 10^{-8} M. Nei campioni di acqua potabile si sono trovate percentuali di inibizione tra 0 e 10 %, che sono al limite di rilevabilità del sistema da noi utilizzato.

1) Bernabei M. et al., Biosensors and Bioelectronics 8 (1993) 265 - 271

INCLUSIONE ELETTROCHIMICA DI ZEOLITI IN POLIMERI CONDUTTORI. CARATTERIZZAZIONE DEL MATERIALE E USO IN UN SENSORE PER LA DOPAMMINA

C.Malitesta, I.Losito, L.Sabbatini, P.G.Zambonin

Dipartimento di Chimica, Universita' di Bari, Via Orabona 4, 70125 Bari

Le zeoliti sintetiche trovano ormai numerosissime applicazioni nel campo della catalisi, della detergenza, del trattamento delle acque, della separazione e purificazione dei gas, ecc.

Piu' recente e' il loro uso nella preparazione di elettrodi modificati (ZME) con lo scopo di conferire loro capacita' di riconoscimento molecolare [1,2]. La loro funzione consiste nel preconcentrare selettivamente una specie dalla matrice d'interesse in ragione della sua particolare dimensione, forma e carica. A tale stadio segue quello di rivelazione sull'elettrodo modificato. Il confinamento della zeolite alla superficie elettrodica e' stato realizzato attraverso varie strategie che utilizzano nella maggior parte dei casi l'inglobamento in paste o materiali polimerici. In tutti questi casi una buona comunicazione tra la zeolite e la superficie elettrodica e' ottenuta attraverso l'aggiunta di materiali conduttori (carbone) alla matrice d'immobilizzazione.

Sebbene l'uso di polimeri elettrosintetizzati rappresenti un'utile alternativa a tali metodi classici di confinamento, solo un primo tentativo [3] e' stato riportato a riguardo. Peraltro, tali polimeri, se conduttori, offrirebbero allo stesso tempo un'ampia superficie elettrodica, prossima alle zeolite intrappolate. Tale metodo d'intrappolamento, poi, condividerebbe tutti i vantaggi propri della preparazione elettrochimica di elettrodi modificati, in particolare in termini di controllo dello spessore e di possibile miniaturizzazione.

L'intrappolamento elettrochimico di zeolite a partire da una sua sospensione non e' pero' cosa banale, come dimostrato dalla configurazione non convenzionale di cella adoperata nell'unico esempio riportato[3].

Nella presente comunicazione verranno illustrati risultati relativi alla preparazione e caratterizzazione analitica di un elettrodo polipirrolo/zeolite NaY. In particolare verra' mostrata l'influenza delle condizioni sperimentali di preparazione sulle caratteristiche dell'elettrodo modificato, determinate attraverso analisi XPS e SEM-EDX. Di tale sistema si illustreranno poi le prestazioni analitiche quale sensore elettrochimico per la dopamina. Saranno inoltre presentate le prime evidenze di un meccanismo elettrodico *intrazeolitico* per l'elettrochimica della dopamina stessa sul ZME.

- 1) A.Walcarius, *Electroanalysis* **11**(1996) 971
- 2) D.R.Rolison, *Chem.Rev.* **90** (1990) 867
- 3) C.G.Murray, R.J.Novak, D.R.Rolison, *J.Electroanal. Chem.* **164** (1984) 205

DETERMINAZIONE VOLTAMMETRICA (DPASV) DI METALLI PESANTI IN OTOLITI DI *Tinca tinca* (L., 1758) (OSTEICHTHYES, CYPRINIDAE) PER LA VALUTAZIONE DI ACQUE DOLCI

G. Adami^a, P. Barbieri^a, F. Bon^a, M. Miletic^b, E. Reisenhofer^a

a Dipartimento Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via Giorgieri 1, I-34127 Trieste

b Dipartimento Scienze Biologiche, Università di Trieste, Via Weiss 2, I-34127 Trieste

Recenti studi hanno preso in considerazione i contenuti di metalli pesanti negli otoliti quali parametri indicatori dell'età e della provenienza dei pesci¹. La maggior parte delle ricerche sono state condotte su teleostei marini. Da queste ricerche emerge la tendenza all'accumulo di certi metalli con l'età, e la comparsa solo occasionale di altri metalli, che vanno quindi interpretati quali inquinanti antropogenici. La mobilità dei pesci nell'ambiente marino, e in particolar modo delle specie migratorie, non consente però di verificare l'influsso delle variazioni ambientali sull'accumulo dei metalli negli organismi, e di poter valutare la qualità delle acque.

Le caratteristiche di maggior stanzialità dei pesci di acqua dolce ci suggerisce invece la possibilità di monitorare la qualità complessiva di queste acque, in cui giungano sversamenti di metalli pesanti da insediamenti industriali, mediante la determinazione dei metalli negli otoliti di pesci quivi campionati. A tal fine, abbiamo preso in considerazione la *Tinca tinca*, pesce resistente anche a situazioni di stress ambientale. Per la determinazione microanalitica dei metalli pesanti ci siamo orientati su un metodo voltammetrico (DPASV), in quanto adeguato a fornire dati accurati anche a livelli di ng/g. Gli otoliti sono stati prelevati da campioni di *Tinca tinca* rappresentativi di varie età e dimensioni, in 3 canali situati nella Bassa Friulana (a Precenico e Torviscosa), in un'area con numerosi insediamenti industriali. In quest'area risulta utile non solo un monitoraggio dei metalli pesanti nei corsi d'acqua, ai fini di controllare eventuali sversamenti di liquami industriali, ma anche una verifica del loro eventuale accumulo negli organismi di queste acque, in cui la pesca è comunemente praticata; questo monitoraggio prevede la raccolta di campioni d'acqua nei 3 canali in cui sono stati prelevati i pesci, su un arco di tempo programmato in diverse situazioni stagionali (o con diversa portata), per verificare eventuali variazioni temporali dei metalli pesanti nella fase acquosa, e le possibili rispettive ripercussioni sul loro bioaccumulo. I campioni di otoliti, tipicamente 20-50 mg, prelevati da pesci della medesima età, dopo un lavaggio preliminare con acqua MilliQ ultrapura, seguito da essiccazione a 70°C per 48 ore, sono stati solubilizzati con HNO₃ superpuro; l'analisi DPASV è stata condotta con un polarografo AMEL 433A computerizzato, impiegando un HMDE come elettrodo di lavoro (tempi di pre-elettrolisi: 3-5 minuti), in celle pretrattate con HNO₃ 1:4, e risciacquate con acqua MilliQ; la valutazione quantitativa di Cu, Pb, Cd e Zn è stata fatta col metodo delle aggiunte standard. La precisione del metodo presenta RSD% del 10-20%; le misure hanno limiti di rilevabilità (L.O.D.) di 0.1-0.4 ng/g, e in genere si ottiene una buona linearità delle curve di calibrazione. Per la valutazione dell'accuratezza purtroppo non si può disporre di materiale di riferimento certificato per queste particolari matrici analitiche.

- 1) J.R. Grady, A.G. Johnson, M. Sanders, *Contribution in Marine Science*, 31:17-23 (1989).
- 2) M. Protasowicki and M. Kosior, *Kieler Meeresforsch.*, 424-431 (1987).

CARATTERIZZAZIONE DEI BALSAMI PRESENTI IN UNA MUMMIA EGIZIANA DEL VII SEC. A.C.

Maria Perla Colombini, Francesca Modugno, Edda Bresciani, Flora Silvano**

*Dipartimento di Chimica e Chimica Industriale - Università di Pisa
via Risorgimento 35, 56126 Pisa*

**Dipartimento di Scienze Storiche del Mondo Antico Università di Pisa, sez. Egitologia
via Galvani 3, 56126 Pisa*

Le metodologie utilizzate nell'antico Egitto per la preparazione delle mummie sono state e sono tuttora oggetto di un ampio dibattito, in quanto accertare la presenza o l'assenza di particolari balsami impiegati per la mummificazione può essere particolarmente importante ai fini della collocazione storica di un sarcofago. Ad esempio è stato scientificamente dimostrato che l'uso del bitume, nel processo di imbalsamazione, risale al IV sec. a.C., epoca in cui erano iniziati gli scambi commerciali con le popolazioni dell'area del Mar Morto, dispensatrici di questo materiale fossile.

La caratterizzazione chimica dei materiali presenti in campioni di mummie è pertanto necessaria per giungere alla conoscenza delle tecniche di mummificazione e della loro evoluzione nel corso della storia dell'antico Egitto.

Le informazioni ottenibili dai documenti storici su questo argomento riconducibili alle notizie riportate da Erodoto, Strabo e Diodoro di Sicilia, sono poche e di difficile comprensione, tuttavia permettono di restringere il campo dei materiali di possibile utilizzazione a miscele di resine vegetali, olii essenziali e ad altri estratti di piante, cera d'api e, solo a partire dal periodo Tolemaico, bitume.

In questo lavoro viene descritta una procedura analitica per la separazione e l'identificazione di diversi componenti organici simultaneamente presenti in campioni archeologici. Tale procedura è basata su estrazione selettiva di resine, cere, bitume, e oli essenziali dai campioni mediante solventi organici, seguita da separazione gas cromatografica che permette di risolvere le complesse miscele che li compongono; e sull'identificazione dei vari componenti mediante spettrometria di massa. In tal modo si ottiene un "fingerprint" molecolare caratteristico per ciascuna classe di composti considerata, che permette di identificare le sostanze naturali presenti nel campione.

Vengono, infine, presentati e discussi i risultati ottenuti applicando la precedente procedura a campioni della mummia di Merneith, rinvenuta nella Tomba di Bakenrene (Sakkara), VII sec. a.c. e a campioni di mummia del 400 a.C..

STUDIO POTENZIOMETRICO E SPETTROSCOPICO DI COMPLESSI METALLICI DI NUCLEOSIDI IN SOLUZIONE ACQUOSA

E. Prenesti, Pier G. Daniele, G. Ostacoli

Dipartimento di Chimica Analitica dell'Università, Via P. Giuria 5, 10125 Torino

Lo studio dell'interazione tra ioni metallici e nucleosidi (ribonucleosidi o 2'-deossiribonucleosidi) può fornire informazioni utili per comprendere l'interazione tra ioni metallici e macromolecole naturali quali DNA ed RNA. Si è iniziata un'indagine sia pH-metrica che spettroscopica (spettrofotometria di assorbimento nel visibile e dicroismo circolare (CD) nell'ultravioletto) per evidenziare l'eventuale formazione di complessi tra ioni metallici quali calcio(II), magnesio(II) e rame(II) e ribonucleosidi quali adenosina, guanosina e citidina. Un esame dei potenziali gruppi donatori (in relazione a calcio(II), magnesio(II) e rame(II)) presenti su queste molecole suggerisce che eventuali complessi non dovrebbero essere particolarmente stabili. Anche la scarsità di dati di letteratura a questo riguardo conferma indirettamente questa ipotesi. E' tuttavia ben nota l'importanza delle interazioni anche deboli, degli ioni alcalino-terrosi nel determinare la stabilizzazione conformazionale di DNA ed RNA. Lo studio su molecole modello potrebbe contribuire alla formulazione di opportune ipotesi di associazione a livello molecolare. Una conoscenza più approfondita di questi meccanismi di interazione potrebbe contribuire ad accrescere le acquisizioni in importanti aree di ricerca nell'ambito della biologia molecolare.

Le misure sono state eseguite a 25 °C ed a forza ionica $I = 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$. L'andamento delle curve di titolazione alcalimetriche di adenosina e citidina, in assenza ed in presenza di calcio(II) (o magnesio(II)) è sovrapponibile, tuttavia gli spettri UV/CD registrati su soluzioni contenenti anche calcio(II) o magnesio(II) mostrano una differenza significativa rispetto agli spettri che si possono ottenere con il solo legante, suggerendo la formazione di complessi che potrebbero coinvolgere i gruppi alcolici del ribosio.

Se si considera invece la guanosina, essa forma con calcio(II) e magnesio(II) complessi che possono essere evidenziati dallo spostamento di ione idrogeno.

Per quanto riguarda il rame(II), le curve di titolazione alcalimetriche, ottenute in presenza di adenosina, guanosina e citidina, non rivelano apprezzabile formazione di complessi nella zona acida, però il precipitato che si forma a pH 5,5 - 6, si scioglie, continuando l'aggiunta di base, a pH > 11. Negli spettri UV/CD registrati a pH ≈ 11.5 compare una banda a circa 300 nm, caratteristica del trasferimento di carica rame(II) - alcolato, ed inoltre il massimo di assorbimento nel visibile si trova a circa 640 nm, compatibile con la presenza di un cromoforo di tipo Cu(N, 3O).

LE GOMME VEGETALI IN CAMPO ARTISTICO: UN APPROCCIO ANALITICO AL PROBLEMA DELLA CARATTERIZZAZIONE

Antonella Casoli¹, Christian Grazioli² e Gerardo Palla²

¹ *Dipartimento di Chimica Generale e Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università di Parma*

² *Dipartimento di Chimica Organica e Industriale, Università di Parma*

Le gomme vegetali sono materiali vegetali amorfi, essudati da alcune piante. Le più usate in campo artistico furono la gomma arabica (prodotta da varie specie di acacia, proveniente soprattutto dal Senegal), la gomma adragante (prodotta dall'*astragalus*, leguminosa dell'Asia Minore) e la gomma di ciliegio (nome generico dato all'essudato di diversi alberi da frutto). Le proprietà adesive delle gomme vegetali sono conosciute da tempo immemorabile, infatti la gomma arabica era usata dagli antichi Egizi nelle tecniche di imbalsamazione. Le conoscenze attuali sulle tecniche impiegate nel corso dei secoli per la realizzazione delle opere d'arte ci pervengono principalmente dalla trattatistica storica. Da testi, quali l'anonimo "De arte illuminandi" e da alcuni scritti di Teofilo, risulta che la principale applicazione delle gomme vegetali in campo artistico è come legante, soprattutto nella pittura su supporti leggeri di natura cartacea, quali ad esempio i manoscritti miniati.

Strutturalmente le gomme sono polisaccaridi complessi ad alto peso molecolare, costituiti da zuccheri pentosi ed esosi e dai loro derivati acidi contenenti un gruppo carbossilico. Come componente minore è presente una frazione proteica che può fungere da ponte fra le diverse unità polisaccaridiche.

In questo lavoro, è presentato un metodo analitico per la caratterizzazione delle gomme vegetali usate in campo artistico. La metodica proposta consiste in una idrolisi acida, seguita da un frazionamento su resine a scambio ionico allo scopo di separare gli aminoacidi dagli zuccheri; in una fase successiva gli idrolizzati, opportunamente derivatizzati, sono analizzati mediante GC/MS.

DETERMINAZIONE DI METALLI PESANTI IN MATRICI AMBIENTALI IN PRESENZA DI INTERFERENTI: TENSIOATTIVI ANIONICI E NON IONICI

Clinio Locatelli, Giancarlo Torsi

*Dipartimento di Chimica "G. Ciamician", Università degli Studi di Bologna,
Via F. Selmi 2, I-40126 BOLOGNA (Italy)*

La correlazione fra la corrente di picco e la concentrazione di un analita è quasi sempre impiegata come dato strumentale per la determinazione analitica di metalli mediante tecniche voltammetriche, mentre è sorprendente il fatto che l'area di picco solo raramente venga impiegata per tale scopo.

Il presente lavoro intende suggerire la possibilità di usare l'area di picco come dato analitico strumentale per determinare la concentrazione di metalli, mettendo in evidenza come l'impiego di tale parametro, anziché la corrente di picco, possa permettere di guadagnare circa un ordine di grandezza, a parità di condizioni sperimentali, nella determinazione del limite di rivelabilità (LOD) di ciascuna specie.

Viene riportata in particolare la determinazione mediante voltammetria differenziale pulsata di Cu, Pb, Cd, Zn in acqua di mare, valutando, dapprima sia su soluzioni acquose che su materiale standard di riferimento (Sea Water BCR-CRM 403) e successivamente sugli stessi campioni di acqua di mare, l'influenza dei vari parametri strumentali sull'area di picco, e ciò chiaramente allo scopo di ottimizzare i risultati analitici.

Le misure voltammetriche sono state eseguite impiegando una convenzionale cella a tre elettrodi.

Nel contesto dell'indagine viene inoltre valutata e messa in luce l'influenza di tensioattivi anionici [Sodiododecilbenzensolfonato (DBS) e Sodiododecilsolfato (SDS)] e non-ionici [Triton X-100] sulle misure voltammetriche relativamente alla determinazione di Cu, Pb, Cd, Zn in acqua di mare.

Tali composti, presenti massicciamente nei formulati per detergenza, sono di estremo interesse in campo ambientale. Essi vengono infatti continuamente scaricati nei corsi d'acqua per raggiungere alla fine il mare.

La precisione e l'accuratezza della procedura analitica, la prima espressa come deviazione standard relativa e la seconda come errore relativo, sono risultate essere buone entrambe per tutti i metalli, essendo in tutti i casi dell'ordine del 2-6%. Il limite di rivelabilità è risultato per ciascun elemento dell'ordine di 10^{-9} M.

CARATTERIZZAZIONE DI UN ELETTRODO ORO-NICHEL PER LA DETERMINAZIONE AMPEROMETRICA DI CARBOIDRATI ED AMMINOACIDI PREVIA SEPARAZIONI CROMATOGRAFICHE A SCAMBIO ANIONICO.

Innocenzo G. Casella, Maria R. Guascito, Maria G. Sannazzaro.

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, 85100 Potenza, Italy.

L'effettiva possibilità di separare in ambiente alcalino, tramite procedure cromatografiche alditoli, carboidrati ed amminoacidi ha dato largo impulso allo sviluppo e studio di idonei detector per la loro determinazione.

L'utilizzo di sensori amperometrici in cromatografia liquida (LC-ED) ha trovato largo interesse negli ultimi anni, poiché essi offrono buone sensibilità, selettività ed un ampio range di linearità concentrazione analitica/segnale (1-3). Purtroppo, il tipo di materiale elettrodico impiegato nonché il suo stato morfologico superficiale giocano un ruolo essenziale nelle performances elettrodiche circa la determinazione di importanti classi di analiti. A tal riguardo recentemente sono stati sviluppati substrati elettrodici la cui superficie viene opportunamente modificata (CMEs) al fine di favorire le cinetiche elettrodiche (tramite la polidispersione di unità catalitiche), il grado di selettività e/o limitare effetti di avvelenamento superficiale (con l'ausilio di idonee matrici polimeriche perm-selettive) (4-6). Alcuni metalli di transizione (i.e. rame, cobalto, nichel, palladio, etc.) aventi spiccate attività elettrocatalitiche verso l'ossidazione di molecole idrossilate vengono dispersi su superfici grafitiche tramite processi di casting o per deposizione elettrochimica. Si ottengono in tal modo matrici elettrodiche le cui unità catalitiche presentano un alto grado di polidispersione con evidenti vantaggi i termini di area superficiale esposta.

In questo studio è stato sviluppato e caratterizzato tramite tecniche voltammetriche e spettroscopiche (XPS) un elettrodo bimetallico oro-nichel (Au-Ni) operante in ambiente alcalino. Sono state studiate in particolare le diverse variabili di deposizione del nichel su superfici di oro (deposizione catodica ed anodica) quali pH, concentrazione del nichel, potenziali di deposizione, presenza di ossigeno, etc. L'elettrodo è stato successivamente caratterizzato come sensore amperometrico in cromatografia a scambio anionico per la rivelazione di alcune importanti classi di analiti quali carboidrati ed amminoacidi.

- 1) R.E. Reim, R.M. VanEffen, *Anal. Chem.*, 58 (1986) 3203.
- 2) P. Luo, F. Zhang, R.P. Baldwin, *Anal. Chem.*, 63 (1991) 1702.
- 3) T. Ueda, R. Mitchell, F. Kitamura, A. Nakamoto, *J. Chromatogr.* 592 (1992) 229.
- 4) J. Wang, P.V.A. Pamidi, C.L. Renschler, C. White, *J. Electroanal. Chem.*, 404 (1996) 137.
- 5) J.M. Zadeii, J. Marioli, T. Kuwana, *Anal. Chem.*, 63 (1991) 649.
- 6) I.G. Casella, T.R.I. Cataldi, A. Guerrieri, E. Desimoni, *Anal. Chim. Acta*, 335 (1996) 217.

SULLO SMOOTHING DELLA DEVIAZIONE STANDARD PER LA REGRESSIONE LINEARE PESATA MEDIANTE METODO DEI MINIMI QUADRATI.

E. Desimoni

DIFCA, Università degli Studi di Milano
Via Celoria 2
20133 Milano

La regressione lineare pesata mediante metodo dei minimi quadrati (wLLSR) richiede la valutazione dei pesi nell'intero range di concentrazione utilizzato nel diagramma di calibrazione. Dato che i pesi sono funzione della deviazione standard, deve essere valutata la miglior relazione funzionale tra deviazione standard sperimentale, s_{exp} , e concentrazione. Allo scopo è necessario ricorrere a tecniche di regressione, in quanto le s_{exp} sono generalmente stimate sulla base di un numero troppo esiguo di repliche e quindi risultano qualitativamente inadeguate alla definizione dei pesi. Secondo quanto suggerito dall'Analytical Methods Committee della Royal Chemical Society (AMC-RCS) (1), in prima approssimazione la relazione funzionale tra deviazione standard e concentrazione può essere considerata lineare

$$s_r = a + b \cdot C \quad 1$$

e quindi lo smoothing della s_{exp} può essere eseguito mediante regressione lineare ordinaria con il metodo dei minimi quadrati (oLLSR). Tuttavia è noto che altre relazioni funzionali tra deviazione standard sperimentale sono possibili, quali per esempio le seguenti (2-4)

$$s_r = a + b \cdot C + c \cdot C^2 \quad 2$$

$$s_r = \sqrt{a^2 + b^2 \cdot C^2} \quad 3$$

$$s_r = a \cdot e^{b \cdot C} \quad 4$$

Il confronto qualitativo delle relazioni funzionali 1-4, arbitrariamente traslate lungo l'asse delle ordinate in Figura 1, indica che la regressione non lineare (nLLSR) può talvolta costituire un metodo di smoothing della s_{exp} più idoneo della oLLSR.

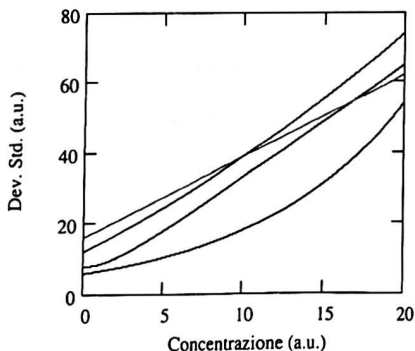


Figura 1 – Confronto di relazioni funzionali 1-4 tipiche

L'analisi di set di dati simulati, di cui sono note a priori la funzione di calibrazione della deviazione standard e quella dei segnali, ha confermato che la tecnica di smoothing più idonea deve essere scelta in funzione dei dati sperimentali. Inoltre, anche nei casi in cui è ragionevole usare la oLLSR, può capitare che la deviazione standard relativa alla concentrazione C_j di una delle soluzioni analizzate per costruire il diagramma di calibrazione venga eccessivamente sottostimata. È il caso in cui la retta di regressione (equazione 1) interseca l'asse delle ascisse in vicinanza di C_j e quindi s_j risulta circa uguale a 0. In questi casi l'intervallo di fiducia delle concentrazioni interpolate risulta così ampio da rendere inutilizzabile il

diagramma di calibrazione: vedere la Figura 2-A1, relativa alla oLLSR della deviazione standard, e 2-A2, relativa alla wLLSR dei segnali eseguita utilizzando i pesi calcolati sulla base dei risultati di Figura 2A-1 (5). Ovviamente, un tale risultato non è spiegabile sulla base della ripetibilità effettiva delle misurazioni. Spesso il problema può essere risolto evitando che la retta di regressione intersechi l'asse delle ascisse. Nella maggior parte dei casi, è sufficiente forzare la retta di regressione della deviazione standard in modo che essa passi attraverso il punto rappresentativo della concentrazione in oggetto (vedere le Figure 2-B1 e 2-B2, relative allo stesso set di dati usato nelle Figure 2A).

Le diverse tecniche di smoothing della deviazione standard possono essere facilmente implementate in fogli di calcolo home-made.

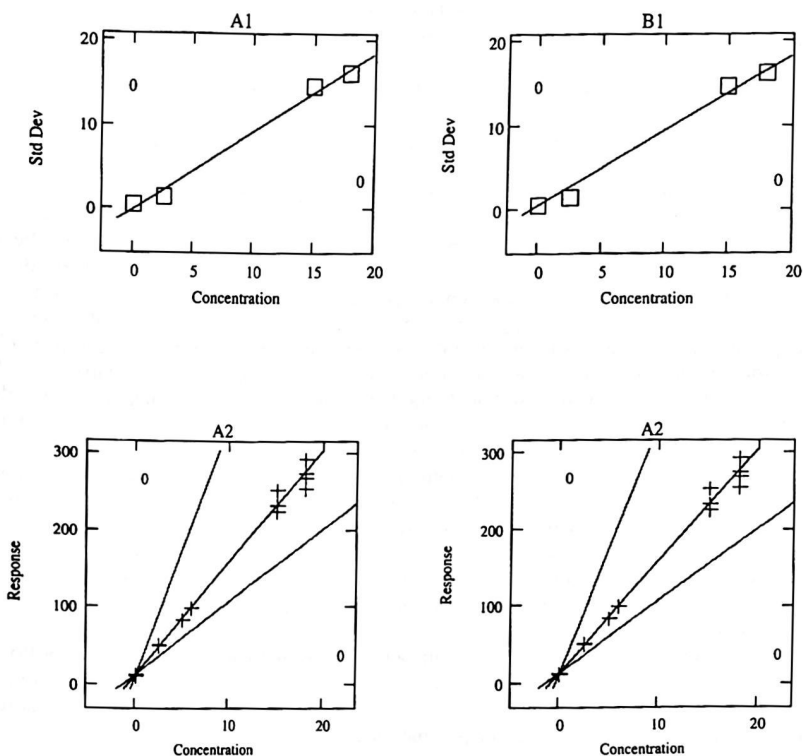


Figura 2: Confronto della regressione lineare ordinaria o forzata della deviazione standard sul risultato della regressione lineare pesata mediante metodo dei minimi quadrati.

- 1) Analytical Methods Committee, *Analyst*, **119**, 2363 (1994)
- 2) M.E. Zorn, R.D. Gibbons, W.C. Sonzogni, *Anal. Chem.*, **69** (1997) 3069
- 3) M. Thompson, *Analyst*, **113** (1988) 1579
- 4) D.M. Rocke, S. Lorenzato, *Technometrics*, **35** (1995) 176
- 5) E. Desimoni, 28th Ann. Int. Symp. Environ. Anal. Chem. (ISEAC 28), Geneve (CH) (1998) L-54

BIOSENSORI A SUPEROSSIDO DISMUTASI OPERANTI IN SOLVENTI ACQUOSI E NON ACQUOSI

L. Campanella, S. De Luca, G. Favero, M. Tomassetti

Dipartimento di Chimica - Università di Roma "La Sapienza"
P.le Aldo Moro, 5 - 00185 Roma ITALIA

La determinazione dei radicali liberi risulta di fondamentale importanza a causa del coinvolgimento di queste specie non solo nella sintesi organica ma soprattutto in vari campi della medicina e della conservazione dei cibi.

Per quanto attiene specificamente gli aspetti relativi alla salute e all'igiene, lo squilibrio tra la produzione ed il rilascio dei radicali e l'efficienza delle difese antiossidanti come l'enzima superossido dismutasi o altre specie caratterizzate da azione antiossidante come il glutatione, l'ascorbato o il tocoferolo, può dar luogo ad uno stress ossidativo a cui fanno seguito alterazioni di carattere biochimico e fisiologico che possono persino culminare con la morte cellulare.

La determinazione dei radicali liberi viene realizzata principalmente mediante la tecnica ESR oppure per mezzo di saggi colorimetrici semiquantitativi. Per contro, esistono relativamente pochi metodi basati su misure di tipo elettrochimico, in particolare sensori e biosensori, anche se questi dispositivi presentano il grande vantaggio di essere in genere poco costosi, facili da costruire e da impiegare anche *in situ*.

Recentemente, abbiamo affrontato il problema iniziando dalla determinazione dei radicali liberi centrati sull'ossigeno, in particolare il radicale superossido, sfruttando sia la capacità di quest'ultimo di ridurre il citocromo c ossidato [1], che la possibilità, comune peraltro a tutti i radicali, di dare luogo ad addotti in seguito a reazioni di *spin trapping* con opportuni composti. A questo proposito, abbiamo da poco sviluppato un sensore potenziometrico basato su di una membrana selettiva contenente benzilidenfenilnitrono [2].

Il biosensore presentato in questa comunicazione, è basato invece sulla reazione catalizzata dall'enzima superossido dismutasi e su due diversi tipi di trasduttori amperometrici: il primo un elettrodo per la determinazione dell'ossigeno ed il secondo un elettrodo per la determinazione del perossido di idrogeno; quest'ultimo ha sinora fornito i migliori risultati, operando in solvente acquoso.

Abbiamo anche tentato di sviluppare un elettrodo enzimatico operante in solvente organico (OPEE: organic phase enzyme electrode), impiegando il biosensore a superossido dismutasi ma, al momento, non abbiamo ottenuto risultati molto incoraggianti con l'assemblaggio di tipo classico. Attualmente, è in corso di valutazione il comportamento del biosensore ottenuto con un nuovo assemblaggio a *sandwich*, mediante il quale l'enzima SOD si trova tra due membrane gas permeabili ed è accoppiato ad un elettrodo amperometrico per l'ossigeno come trasduttore. I primi risultati ottenuti con questo nuovo approccio sono sicuramente molto incoraggianti.

Questa ricerca rappresenta un lavoro di base, in particolare se confrontato con il numero molto esiguo di sensori adatti alla determinazione dei radicali descritti in letteratura. Anche se questo argomento necessita di ulteriori indagini, confidiamo che le diverse possibilità di sviluppare sensori e biosensori per radicali liberi da noi analizzate possano rivelarsi utili anche per studi successivi.

- 1) L. Campanella, G. Favero, M. Tomassetti; *Sensors & Actuators B*, 44 (1997) 559.
- 2) L. Campanella, G. Favero, F. Occhionero, M. Tomassetti; *Terza Conferenza Nazionale su Sensori e Microsistemi*, Genova, 1-13/2/1998, 'Riassunti' p. 49.

DINAMICHE DI PARAMETRI CHIMICO-FISICI E CLOROFILLE NELLE ACQUE DEL GOLFO DI TRIESTE

P.Barbieri^a, D.L.Massart^b, S.Predonzani^c, G.Adami^a e E.Reisenhofer^a

^a *Dipartimento Scienze Chimiche, Università di Trieste, Via Giorgieri 1, I-34217 Trieste, (Italy)*

^b *ChemoAC, Vrije Universiteit Brussels, Laarbeeklaan 103, 1090 Brussels, (Belgium)*

^c *Laboratorio di Biologia Marina, Strada Costiera 336, 34010 Trieste, (Italy)*

Lo studio della qualità delle acque in un ecosistema comporta la determinazione analitica di specie chimiche di significato tossico. Parallelamente, ed a complemento di ciò, è necessario indagare la distribuzione dei parametri chimico-fisici e biologici che possono condizionare il trasporto e la trasformazione delle specie tossiche nel sistema. In un tale contesto, in preparazione di uno studio sui flussi e sul destino dei metalli pesanti nel Golfo di Trieste^{1,2}, si inquadra l'analisi di dati di temperatura, salinità, ossigeno disciolto, azoto ammoniacale, nitroso e nitrico, silicati, clorofilla a, e feopigmenti, determinati su aliquote d'acqua campionate mensilmente dall'aprile '95 al marzo '97, in 16 stazioni del golfo, a diverse profondità della colonna d'acqua.

Un'analisi delle componenti principali, condotta su una matrice di 909x9 dati, ha portato a individuare 4 fattori esplicativi del 76.6% della varianza totale del data set.

Sulla prima componente principale sono caricati con loadings elevati i nitrati (con segno positivo), e la salinità (con segno negativo); i punteggi (scores) relativi alle stazioni prospicienti alle foci del fiume Isonzo sono chiaramente più elevati di quelli dei restanti siti, chiarendo l'importanza del fiume nel condizionare questo fattore. Punteggi anomali si registrano nei periodi di rimescolamento della colonna d'acqua, all'inversione del termoclino.

Tanto per la seconda che per la terza componente principale sono rilevanti temperatura, ossigeno disciolto, nitrati, clorofilla a e feopigmenti. Esaminando il biplot di questi fattori, e mettendo in evidenza il mese di campionamento degli scores, si può osservare come la produzione di clorofilla oscilli tra due poli, uno primaverile (acque più fredde e ricche d'ossigeno) ed uno tardo-estivo autunnale (acque relativamente calde, con minor ossigeno disciolto), corrispondenti ai blooms del fitoplankton. Una produzione eccezionale di clorofilla si è riscontrata nel dicembre '96, mese straordinariamente mite. La quarta componente principale ha loadings elevati per ammoniaca, feopigmenti, ossigeno disciolto (con segno negativo) e temperatura, ed è interpretabile in termini di decomposizione della sostanza organica. I boxplots degli scores, relativi alle diverse profondità di campionamento, mostrano come tale fattore sia rilevante sul fondo marino, ma anche in superficie, in relazione ad un'elevata produzione di sostanza organica. Le evidenze sperimentali ottenute, relative ai fenomeni connessi alle complesse dinamiche che governano i patterns chimico-fisici di queste acque costiere, consentiranno di razionalizzare e parametrizzare l'evoluzione temporale e la distribuzione spaziale degli stessi, a beneficio anche delle attività economiche di maricoltura presenti in quest'area.

- 1) E. Reisenhofer, G. Adami and A. Favretto, "Heavy metals and nutrients in coastal, surface seawaters (Gulf of Trieste, North Adriatic Sea): an environmental study by factor analysis", *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 354:729-734 (1996).
- 2) P. Barbieri, G. Adami, E. Reisenhofer and A. Favretto, "A chemometric survey of three sites in Muggia Bay (Northern Adriatic Sea): meteorological effects on heavy metal patterns in surface coastal waters", *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* (1998), in press.

INFLUENZA DI MODIFICATORI ORGANICI NELL' ELUENTE CROMATOGRAFICO SULLA DETERMINAZIONE DI CAROTENOIDI MEDIANTE TECNICA LC-MS CON INTERFACCIA PARTICLE BEAM

M. Careri, P. Lombardi, C. Mucchino

Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università di Parma, Viale delle Scienze, 43100 Parma, Italy

Nel presente studio è stato sviluppato e validato un nuovo metodo basato sull' impiego della cromatografia liquida-spettrometria di massa con interfaccia particle beam (LC-PB-MS) per l' analisi di componenti di interesse nutrizionale e biologico, quali i carotenoidi. In uno studio preliminare, la tecnica LC-PB-MS era stata proposta per l' analisi qualitativa e quantitativa del β -carotene [1]. In questo lavoro è stata verificata l' applicabilità del metodo ad un carotene aciclico (licopene) ed a xantofille (astaxantina, luteina, zeaxantina, β -criptoxantina, cantaxantina). Le condizioni cromatografiche per la separazione in fase inversa di queste sostanze hanno richiesto l' impiego di due colonne C18 narrow-bore in serie, con eluizione in gradiente. La rivelazione PB-MS è stata effettuata con meccanismo di cattura elettronica (EC NCI, ionizzazione chimica con registrazione del segnale degli ioni negativi); è da osservare come gli spettri NCI dei carotenoidi risultino dominati da intensi ioni $[M]^-$ formati in seguito a processi di cattura di elettroni secondari; il trasferimento di energia in questo processo di attacco è limitato e causa una frammentazione molto ridotta.

L' obiettivo dello studio era lo sviluppo di un metodo selettivo, sensibile e con un ampio intervallo di linearità di risposta per i carotenoidi, data l' elevata variabilità di concentrazione di queste sostanze in matrici alimentari e biologiche [2]. A questo scopo, il sistema cromatografico è stato opportunamente valutato in termini di tipo di colonna, composizione e flusso di fase mobile. L' utilizzo di colonne narrow-bore si è dimostrato particolarmente vantaggioso grazie al ridotto flusso richiesto (0.2 ml/min), che consente una efficiente nebulizzazione e desolvatazione degli effluenti della colonna. E' stato quindi valutato l' impiego di modificatori organici (trietilammina e acetato d'ammonio) nella fase mobile costituita da una miscela acetonitrile/metanolo/diclorometano in gradiente di eluizione. L' analisi della varianza multifattoriale (additivo, natura dell' analita e concentrazione di analita) con interazioni ha indicato la significatività dell' effetto degli additivi della fase mobile tra gli effetti principali, consentendo di evidenziare un diverso comportamento per luteina e licopene rispetto a β -carotene, β -criptoxantina e zeaxantina; inoltre sono risultate significative tutte le possibili interazioni tra i fattori considerati.

Rispetto alla fase mobile senza l' aggiunta dei modificatori, la presenza di additivi ha consentito di ottenere migliori risultati in termini di corrente ionica totale e di linearità di risposta, in conseguenza di un trasferimento degli analiti più efficiente attraverso l' interfaccia, in particolare a basse concentrazioni. Operando in SIM (single ion monitoring), sono stati ottenuti limiti di rivelazione dell' ordine dei pg per tutti i carotenoidi in esame eccetto che per la luteina (1 ng), licopene (3 ng) ed astaxantina (20 ng), inferiori di un fattore variabile da circa 3 a 15 a seconda dell' analita in esame, rispetto all' impiego dell' eluente non contenente i modificatori organici. E' stata inoltre valutata la precisione strumentale a due livelli di concentrazione, in termini di ripetibilità e di riproducibilità.

Il metodo sviluppato è stato quindi applicato alla determinazione di carotenoidi in matrici vegetali, tra le quali la microalga *Spirulina platensis*, impiegata in forma di liofilizzato in campo dietetico per l'elevato contenuto di questi composti. Su 5 porzioni del campione liofilizzato di microalga, sono stati effettuati procedimenti di estrazione, utilizzando la cantaxantina come standard interno. La tecnica LC-MS si è dimostrata efficace nell' ottenimento di una identificazione univoca degli analiti in esame, abbinando la separazione alla caratterizzazione degli eluati, uno dei problemi più rilevanti nell' analisi di matrici complesse. Operando in scansione di massa da 150 a 600 u.m.a., sono stati identificati per mezzo dei relativi spettri di massa NCI carotenoidi correlati dal punto di vista strutturale, quali il β -carotene, la β -criptoxantina e la zeaxantina ed un carotenoide avente un peso molecolare di 538 u.m.a., identificato come echinenone. Su queste sostanze è stata quindi effettuata una analisi quantitativa ed i risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli ricavati applicando il metodo LC-UV.

La tecnica HPLC-PB-NCI-MS con impiego di colonne narrow-bore ha mostrato una sensibilità e selettività tali da renderla promettente per l'analisi qualitativa e quantitativa di carotenoidi anche in matrici complesse.

- 1) M. Careri, P. Manini, *Chromatographia*, 46 (1997) 425.
- 2) J.M. deMan, in *Principles of Food Chemistry*, Van Nostrand Reinhold, New York, 1990, p. 223.

DETERMINAZIONE DI POLICLOROBIFENILI (PCB.S) NEI SEDIMENTI DELLA LAGUNA DI VENEZIA: CONFRONTO FRA AREE SOTTOPOSTE A DIFFERENTE IMPATTO ANTROPICO

R. Piazza¹, A. Gambaro^{1,2}, M. Benedetti, I. Moret^{1,2}, P. Cescon^{1,2}

¹ Dipartimento di Scienze Ambientali, Università Cà Foscari, Venezia

² Centro di Studio sulla Chimica e le Tecnologie per l'Ambiente - CNR, Venezia

La Laguna di Venezia è un sistema a forte impatto antropico e dalla geomorfologia ed ecologia peculiare: l'azione a cui è sottoposta non è dovuta solo a processi naturali, tipici degli ecosistemi lagunari, ma anche ad una serie di interventi di natura diversa da parte dell'uomo legati allo sviluppo demografico, alla presenza di industrie, di imprese portuali e turistiche e all'intensificazione delle attività agricole del bacino scolante. Le diverse attività che si svolgono sul territorio sono in parte responsabili del carico inquinante convogliato in laguna attraverso una rete idrografica che ha 29 punti di immissione di diversa origine.

I Policlorobifenili (PCBs) sono prodotti industriali stabili di cui in passato si è fatto largo uso (fluidi refrigeranti e isolanti nei trasformatori e nei condensatori, olii lubrificanti, fluidi idraulici, additivi di resine epossidiche ecc.).

Tra i 209 possibili congeneri di PCBs, alcuni di questi hanno dimostrato gradi di tossicità confrontabili con quelli delle Policlorodibenzodiossine e Policlorodibenzofurani; a causa del loro elevato carattere lipofilo, essi hanno tendenza al bioaccumulo ed entrano nella catena alimentare. Il problema della tossicità dei PCBs è reso ancora più grave dalla loro scarsa reattività, che porta ad una elevata persistenza ambientale. Tutto questo giustifica lo sforzo analitico atto alla identificazione ed alla quantificazione dei singoli congeneri in matrici ambientali; essendo poi tali composti di origine esclusivamente antropica e grazie alla loro elevata stabilità, essi possono essere usati come traccianti della contaminazione ambientale.

In questo lavoro, si è proceduto al riconoscimento ed alla quantificazione di singoli PCBs in 14 campioni di sedimento provenienti dalla campagna di campionamento svoltasi nel luglio 1994 nell'ambito del Progetto di Ricerca del Sistema Lagunare Veneziano.

Questi campioni, che erano stati opportunamente stabilizzati subito dopo il prelievo per garantirne la conservazione, provengono da 5 diverse aree della Laguna di Venezia sottoposte a differente pressione antropica: Porto Marghera (antistante alla zona industriale); Dese (all'interno della Palude di Cona, in prossimità della foce del fiume Dese); Venezia (in diverse zone della città); Sacca Sessola (presso l'omonima isola artificiale, nella parte centrale della Laguna). La distribuzione spaziale dei siti di campionamento era stata scelta sulla base della presunta diversità quali e quantitativa del carico inquinante.

La metodologia analitica messa a punto per questo lavoro è stata la seguente:

- Estrazione di 3 gr di sedimento in bagno ad ultrasuoni con miscela esano/diclorometano;
- Purificazione dell'estratto mediante estrazione con mercurio e successiva cromatografia liquida su colonna (fase stazionaria: allumina attivata-Florisil; eluente: n-esano);
- Concentrazione in flusso di azoto ed analisi gascromatografica con rivelatore a spettrometria di massa, tecnica S.I.M. (Single Ion Monitoring).

L'analisi qualitativa ha consentito di identificare fino a 57 congeneri di PCBs, attraverso il confronto con cromatogrammi e spettri di massa di ioni caratteristici ottenuti da miscele commerciali (Aroclor 1242, 1254, 1260) e da singoli standards.

La quantificazione dei singoli congeneri è avvenuta utilizzando standards interni opportunamente scelti attraverso un'analisi preliminare dei singoli campioni, e aggiunti in quantità opportune e differenziate direttamente su ogni campione di sedimento secco all'inizio della procedura analitica.

Il range di concentrazioni trovate, espresse come somma di tutti i congeneri quantificati, varia tra 4 (Dese) e i 239 (Venezia centro storico, Canal Grande) ng/g di sedimento secco.

I risultati hanno evidenziato una discreta omogeneità all'interno di ogni singola area studiata, ad eccezione di quella veneziana, ove in un sito di campionamento ad elevato traffico nautico e ad elevata densità di popolazione (Canal Grande) sono stati trovati valori molto elevati; le indagini effettuate nell'ambito del Progetto di Ricerca del Sistema Lagunare Veneziano (1994) avevano indicato lo stesso sito

come quello a maggiore contaminazione, sulla base della valutazione di altri parametri (metalli pesanti e tossicità acuta).

Per quanto riguarda la distribuzione dei singoli congeneri, notevoli differenze sono state riscontrate fra le 5 aree di campionamento. La presenza degli omologhi triclorurati rispetto al totale dei congeneri, varia dal 5% (area di Venezia) al 38% (area di Chioggia), per i pentacloro si passa dal 17% di Chioggia al 43% di Venezia. Valori percentuali più simili tra loro nelle 5 aree si sono riscontrati per i tetra- esa- ed epta-cloro bifenili.

Scienze e Tecnologie Ambientali

1. The first step in the process of the...
2. The second step is to...
3. The third step is to...
4. The fourth step is to...
5. The fifth step is to...
6. The sixth step is to...
7. The seventh step is to...
8. The eighth step is to...
9. The ninth step is to...
10. The tenth step is to...

11. The eleventh step is to...
12. The twelfth step is to...
13. The thirteenth step is to...
14. The fourteenth step is to...
15. The fifteenth step is to...
16. The sixteenth step is to...
17. The seventeenth step is to...
18. The eighteenth step is to...
19. The nineteenth step is to...
20. The twentieth step is to...

21. The twenty-first step is to...
22. The twenty-second step is to...
23. The twenty-third step is to...
24. The twenty-fourth step is to...
25. The twenty-fifth step is to...
26. The twenty-sixth step is to...
27. The twenty-seventh step is to...
28. The twenty-eighth step is to...
29. The twenty-ninth step is to...
30. The thirtieth step is to...

31. The thirty-first step is to...
32. The thirty-second step is to...
33. The thirty-third step is to...
34. The thirty-fourth step is to...
35. The thirty-fifth step is to...
36. The thirty-sixth step is to...
37. The thirty-seventh step is to...
38. The thirty-eighth step is to...
39. The thirty-ninth step is to...
40. The fortieth step is to...

41. The forty-first step is to...
42. The forty-second step is to...
43. The forty-third step is to...
44. The forty-fourth step is to...
45. The forty-fifth step is to...
46. The forty-sixth step is to...
47. The forty-seventh step is to...
48. The forty-eighth step is to...
49. The forty-ninth step is to...
50. The fiftieth step is to...

51. The fifty-first step is to...
52. The fifty-second step is to...
53. The fifty-third step is to...
54. The fifty-fourth step is to...
55. The fifty-fifth step is to...
56. The fifty-sixth step is to...
57. The fifty-seventh step is to...
58. The fifty-eighth step is to...
59. The fifty-ninth step is to...
60. The sixtieth step is to...

61. The sixty-first step is to...
62. The sixty-second step is to...
63. The sixty-third step is to...
64. The sixty-fourth step is to...
65. The sixty-fifth step is to...
66. The sixty-sixth step is to...
67. The sixty-seventh step is to...
68. The sixty-eighth step is to...
69. The sixty-ninth step is to...
70. The seventieth step is to...

71. The seventy-first step is to...
72. The seventy-second step is to...
73. The seventy-third step is to...
74. The seventy-fourth step is to...
75. The seventy-fifth step is to...
76. The seventy-sixth step is to...
77. The seventy-seventh step is to...
78. The seventy-eighth step is to...
79. The seventy-ninth step is to...
80. The eightieth step is to...

Second session poster

TEORIA STOCASTICA DI CROMATOGRAFIA LINEARE DI ADSORBIMENTO SU FASE ETEROGENEA

Alberto Cavazzini⁽¹⁾, Maurizio Remelli⁽¹⁾, Francesco Dondi⁽¹⁾, Attila Felinger⁽²⁾.

⁽¹⁾ Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara
Via L.Borsari, 46. I-44100 Ferrara.

⁽²⁾ Department of Analytical Chemistry, University of Chemical Engineering
P.O. Box 158, H-8201 Veszprem, Hungary.

L'adsorbimento su superfici eterogenee, caratterizzate cioè da siti di adsorbimento di tipo diverso e che diversamente interagiscono con le molecole, è connesso con una vasta gamma di problematiche applicative di natura strettamente cromatografica (quali ad esempio lo studio dell'effetto dell'eterogeneità della fase sulla forma del picco cromatografico) e di rilevanza chimico-fisica (per esempio lo studio del tempo di soggiorno delle singole molecole sui diversi siti). Alcuni fondamentali meccanismi di ritenzione, inoltre, sono ricollegabili a processi di interazione con siti eterogenei (caso delle separazioni chirali).

Nel presente lavoro viene proposta una descrizione di tipo dinamico-probabilistica [1-3] di cromatografia di adsorbimento-multisito in condizioni di linearità, mediante il metodo della Funzione Caratteristica [4-6].

Lo studio dei più importanti parametri caratterizzanti l'efficienza del sistema separativo e la forma del picco cromatografico (altezza del piatto teorico, Skewness ed Excess) e la loro dipendenza dall'eterogeneità della fase è presentato non solo nel caso di superfici caratterizzate da soli due diversi tipi di sito [2,3,6], ma anche nel caso di distribuzione continua (uniforme, esponenziale, gaussiana) delle energie di adsorbimento.

- 1) J. C. Giddings, *Dynamics of Chromatography*, M. Dekker, New York, 1965.
- 2) J. C. Giddings, H. Eyring, *J. Phys. Chem.*, 59, 416, 1955.
- 3) J. C. Giddings, *J. Chem. Phys.*, 26, 169, 1957.
- 4) F. Dondi, M. Remelli, *J. Phys. Chem.*, 90, 1885, 1986.
- 5) F. Dondi, G. Blo, M. Remelli, P. Reschiglian in *Theoretical Advancement in Chromatography and Related Separation Techniques*, NATO ASI Series C-Vol. 383, F. Dondi, G. Guiochon, Eds. (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1992), p. 173.
- 6) A Cavazzini, M. Remelli, F. Dondi, *J. Micro. Sep.*, 9, 295-302, 1997.

STUDIO DEL COEFFICIENTE DI SORET PER IL POLISTIRENE IN DECALINA MEDIANTE FRAZIONAMENTO IN CAMPO TERMICO-FLUSSO

D. Melucci, C. Contado, F. Dondi.

Dipartimento di Chimica, Università di Ferrara, V. L. Borsari 46, 44100 Ferrara (Italia)

I. Mingozzi

Montell Polyolefins, P.le Donegani 12, 44100 Ferrara (Italia)

M. Martin, M. Hoyos

École Supérieure de Physique et Chimie Industrielles, Laboratoire de Physique et Mécanique des Milieux Hétérogènes, 10 Rue Vauquelin, 75231 Paris Cedex 05 (France)

La tecnica di frazionamento in campo termico-flusso (ThFFF) permette la caratterizzazione di polimeri in soluzione [1]. Mediante tale tecnica, essenzialmente di tipo liquido-cromatografico, è possibile mettere in relazione diretta il parametro di ritenzione con proprietà chimico-fisiche dell'analita: in particolare, è possibile determinare sperimentalmente il coefficiente di Soret, ovvero il rapporto tra coefficiente di diffusione termica e coefficiente di diffusione ordinaria.

Per determinare esattamente tale coefficiente è necessario tenere conto del fatto che all'interno di un canale ThFFF agisce un campo termico non costante ed il profilo di temperatura lungo lo spessore del canale non è lineare. Di conseguenza, alcune condizioni classicamente vere non sussistono più: il profilo di velocità di flusso non è parabolico ed il profilo di concentrazione di un campione che eluisce entro tale canale non è esponenziale. Inoltre, è necessario tenere conto della dipendenza dalla temperatura di grandezze quali: conducibilità termica, viscosità, densità e coefficiente di espansione termica. In letteratura [2] è già disponibile un metodo che permette di valutare l'effettiva distanza tra campione e parete di accumulazione durante l'eluizione.

In questo lavoro, il metodo suddetto viene applicato a campioni di polistirene dissolto ed eluito in decalina: tale solvente si è rivelato competitivo con altri quanto a selettività e preferibile per ragioni di alto punto di ebollizione, basso costo, bassa tossicità [3]. Vengono analizzati campioni di vari pesi molecolari ed a partire dai dati sperimentali di ritenzione viene calcolata un'espressione della forma:

$$s_T = (c_0 + c_1 T + c_2 T^2) M^{(b_0 + b_1 T + b_2 T^2)}$$

dove s_T è il coefficiente di Soret, T è la temperatura assoluta ed M è il peso molecolare.

- 1) Giddings, J. C.; Science, 1993, 260, 1456
- 2) Martin, M., van Batten, C., Hoyos, M., Anal. Chem., 1997, 69, 1339.
- 3) Melucci, D., Contado, C., Mingozzi, I., Reschiglian, P., Dondi, F., Chromatographia, sottoposto a pubblicazione

ANALISI DIMENSIONALE QUANTITATIVA ED ASSOLUTA IN FRAZIONAMENTO CAMPO-FLUSSO CON DETECTOR UV-VIS. APPLICAZIONE A CAMPIONI DI PARTICOLATO IN DISPERSIONE

P. Reschiglian, A. Zattoni, G. Torsi, R.S. Jurado

Department of Chemistry "G. Ciamician", V. Selmi 2, 40126 Bologna (Italy)

D. Melucci

Department of Chemistry, University of Ferrara, V. L. Borsari 46, 44100 Ferrara (Italy)

Nell'ambito dello sviluppo strumentale e metodologico di analisi quantitativa in Frazionamento in Campo-Flusso (FFF), sono stati recentemente definiti e messi a punto esperimenti per l'ottenimento di procedure di analisi assoluta con rivelatori UV-Vis. da HPLC di tipo convenzionale [1,2]. Si è osservato in particolare che la misura della quantità di campione iniettato poteva essere eseguita mediante singole misurazioni di area di picco, senza la necessità di alcun tipo di calibrazione, potendosi prevedere teoricamente il coefficiente di estinzione in funzione delle variabili strumentali (ottica del rivelatore e lunghezza d'onda di lavoro) e delle caratteristiche del campione (dimensione, densità e indice di rifrazione relativo al mezzo disperdente).

In questo lavoro viene applicato tale modello di analisi assoluta per la determinazione di curve di distribuzione dimensionale quantitative (PSAD) [3]. La tecnica FFF qui impiegata è il Frazionamento in Campo Gravitazionale-Flusso (GrFFF), metodica a basso costo facilmente implementabile in una apparecchiatura HPLC di tipo convenzionale con la sola sostituzione della colonna. La GrFFF trova il suo campo di intervento nella separazione di particolato supermicronico. La possibilità di ottenere PSAD da singole misurazioni apre l'orizzonte all'analisi dimensionale senza standardizzazioni. Tale obiettivo può essere ottenuto direttamente in fase di acquisizione mediante la conversione del segnale analitico in *massa* contro *dimensioni*. Per questa conversione è tuttavia necessario stabilire una relazione esatta tra tempi di ritenzione e dimensioni dell'analita: tale relazione è caratteristica propria delle metodiche FFF, a differenza della cromatografia convenzionale. Nel caso particolare della GrFFF, i tempi di ritenzione dipendono in misura inversamente proporzionale alle dimensioni delle particelle costituenti l'analita, a meno di un parametro di correzione dovuto all'azione delle forze di galleggiamento idrodinamico che agiscono in direzione opposta al campo gravitazionale applicato. In questo lavoro si verifica sperimentalmente il modello semiempirico proposto da Williams per la determinazione di tale parametro di correzione idrodinamica [4]. I risultati indicano un buon accordo con tale modello, una volta che siano state raggiunte le condizioni di ottimizzazione strumentale per i campioni considerati. Si sono utilizzati canali GrFFF di diversa lunghezza e spessore e studiati campioni di varie dimensioni, costituiti da diversi tipi di silice, sia non derivatizzate che a superficie idrofobica, impiegate comunemente quali fasi stazionarie per HPLC. I dati PSAD ottenuti mediante analisi assoluta dimostrano generalmente un buon accordo tra valori nominali delle distribuzioni e relativi valori sperimentali, confermando quindi che tale metodica separativa rapida, poco costosa e di accuratezza confrontabile con procedure di analisi dimensionale più convenzionali (es. metodi ottici), può costituire una soluzione alternativa e a basso costo per studi di caratterizzazione dimensionale di sistemi dispersi da parte di utenti HPLC che non desiderino investire in strumentazione dedicata.

- 1) Reschiglian, P., Melucci, D., Torsi, G., *Chromatographia*, **1997**, *44*, 172.
- 2) Zattoni, A., Melucci, D., Torsi G., and Reschiglian, P., *Anal. Chem.*; sottoposto a pubblicazione, 12/10/97
- 3) Reschiglian, P., Melucci, D., Zattoni, A., and Torsi, G., *J. Microcolumn Sep.*, **1997**, *9*, 545.
- 4) Williams, P. S., Lee, S., and Giddings, J., *C. Chem. Eng. Commun.*, **1994**, *130*, 143.

DETERMINAZIONE SPETTROFLUORIMETRICA DI ALLUMINIO IN CAMPIONI DI PRECIPITAZIONI NEVOSE E DI AEROSOL.

R. Udisti, M.C. Giacomelli, R. Traversi, A. Gualandi

*Dipartimento di Sanità Pubblica e Chimica Analitica Ambientale - Università di Firenze
Via G. Capponi, 9 Firenze*

L'alluminio è il metallo più diffuso nella crosta terrestre, dove si trova soprattutto come silicati e ossidi idrati. Per azione degli agenti atmosferici e per effetti di dilavamento, esso viene disperso nelle altre matrici ambientali come, ad esempio, nelle acque naturali (dove è presente a basse concentrazioni a causa della bassa solubilità dei suoi sali basici) e nel particolato atmosferico (dal quale è rimosso dalle wet e dry depositions). Dato il suo rilevante ruolo di componente fondamentale di rocce siliciche, l'Al riveste una notevole importanza come tracciante di origine crostale e le correlazioni tra la sua concentrazione e quelle di Si, Fe, Mn e Ca possono portare alla identificazione delle fonti primarie di particolato atmosferico.

D'altra parte, l'Al è diffuso negli ecosistemi marini come importante componente di cicli bio-geo-chimici, così che la superficie marina costituisce sia un deposito che una fonte della distribuzione di Al su scala globale. La sua determinazione nell'aerosol e nelle precipitazioni atmosferiche costituisce, quindi, il presupposto necessario per individuare e caratterizzare le varie fonti. In particolare, il contenuto di Al in carote di ghiaccio prelevate in Antartide può permettere l'ottenimento di dati paleoclimatici (come, ad esempio, il maggior numero di particelle sospese nell'atmosfera nei periodi di transizione glaciale/interglaciale) o lo studio dei processi di trasporto a lungo raggio in una regione virtualmente esente da input antropogenici.

A tale scopo è stato ottimizzato un metodo spettrofluorimetrico in flow analysis capace di fornire elevate sensibilità e riproducibilità, così da poter determinare direttamente livelli inferiori a 1 ppb senza procedure di pre-concentrazione. La scelta di un metodo in flow analysis è anche dovuta alla sue peculiari doti di semplicità, rapidità, basso costo di acquisto e gestione. Infine, tale tecnica potrà permettere l'analisi in continuo su carote di ghiaccio per la ricostruzione dei profili concentrazione/profondità.

Il metodo si basa sulla reazione di Al con lumogallion in tampone acetico con formazione di un complesso fluorescente. Una accurata ottimizzazione dei tipici parametri sperimentali (pH e T° di reazione, loop di miscelamento, esaltazione della fluorescenza attraverso il raffreddamento post-reazione e la formazione di micelle con l'aggiunta di un tensioattivo) ha portato a limiti di determinazione inferiori a 0.1 ppb nelle varie matrici con deviazioni standard relative minori del 2% su concentrazioni di poche ppb.

Particolare attenzione è stata posta nello studio delle possibili interferenze da parte degli altri componenti principali o in tracce.

Una discussione critica sul significato della misura di Al nei vari campi di pH e con vari procedimenti di trattamento del campione (dissoluzione, filtrazione) è inoltre indispensabile per la comprensione di quale forma di Al possa essere determinata nelle diverse condizioni sperimentali (Al libero, specie labili, specie colloidali, specie complessate, sali basici poco solubili o costituenti essenziali delle matrici siliciche delle rocce).

OTTIMIZZAZIONE DI METODOLOGIE ANALITICHE PER ANALISI DISCONTINUE E SEMI-CONTINUE DI COMPONENTI DI PRECIPITAZIONI ATMOSFERICHE

E. Castellano, S. Vermigli, V. Celestini, R. Udisti, G. Piccardi

*Dipartimento di Sanità Pubblica e Chimica Analitica Ambientale Università di Firenze -
Via G. Capponi, 9 FIRENZE*

Per evitare fenomeni di degradazione dei campioni provenienti da una precipitazione atmosferica è necessario poter effettuare la determinazione di un elevato numero di componenti chimici nel minor tempo possibile dalla sua raccolta (wet deposition) o dal suo discioglimento (precipitazione nevosa). Tale necessità indirizza verso l'utilizzo di tecniche integrate di flow-analysis e di cromatografia ionica con grado di automazione relativamente elevato.

L'analisi contemporanea di cationi (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+}), anioni inorganici (Cl^- , Br^- , NO_3^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-}), anioni organici (acetati, propionati, formiati, piruvati e acido metansolfonico più fluoruri) per cromatografia ionica e di H_2O_2 , HCHO e Al^{3+} per FIA-spettrofluorimetrica è effettuata attraverso un sistema costituito da un autocampionatore, una valvola a 4 vie e una pompa peristaltica per la distribuzione dei flussi nelle singole strumentazioni di misura

L'applicazione di tali metodologie all'analisi dei componenti presenti in tracce o ultra-tracce (< ppb), con particolare riguardo allo studio dell'ecosistema antartico, ha comportato la ricerca di un'elevata ottimizzazione dei sistemi utilizzati in termini di sensibilità, selettività, detection limit e consumo di campione così da ottenere l'analisi diretta dei campioni esaminati senza ricorrere a tecniche di pre-concentrazione ed utilizzando volumi generalmente dell'ordine di qualche ml.

In particolare è stato messo a punto un sistema semi-continuo per la determinazione di NO_3^- e SO_4^{2-} per IC capace di effettuare una determinazione al minuto su campioni provenienti dalla fusione continua di una carota di neve, così da ricostruire i profili concentrazione/profondità con elevata risoluzione.

Tale sistema è stato utilizzato con successo durante l'ultima campagna antartica presso la base Italo-Francese di Dome-Concordia nell'ambito del progetto europeo EPICA (European Project for Ice Coring in Antarctica).

SIGNIFICATIVITÀ DI MISURE IN FLOW ANALYSIS DI H_2O_2 ATTRAVERSO VARIAZIONI SPERIMENTALMENTE SIMULATE DI GRADIENTI DI CONCENTRAZIONE.

S. Becagli, O. Largiuni, R. Udisti, G. Piccardi

*Dipartimento di Sanità Pubblica e Chimica Analitica Ambientale - Università di Firenze -
Via G. Capponi, 9 Firenze*

L' H_2O_2 , insieme ad O_3 e ai radicali OH e HO_2 , costituisce un indicatore della capacità ossidante dell'atmosfera ed assume particolare importanza nelle reazioni di trasformazione di sostanze antropogeniche e naturali immesse nei vari ecosistemi. In particolare, l' H_2O_2 gioca un ruolo essenziale nei processi di trasformazione di composti appartenenti ai cicli bio-geo-chimici del carbonio, dell' azoto e dello zolfo come, ad esempio, nella ossidazione di SO_2 ad H_2SO_4 nell'aerosol atmosferico. Mentre O_3 e, a maggior ragione, i radicali OH e HO_2 hanno tempi di residenza estremamente brevi, l' H_2O_2 ha una vita media sufficientemente elevata (1 giorno) così che è possibile seguire l'andamento delle sue variazioni di concentrazione nell'atmosfera in relazione ai fenomeni che portano alla sua produzione (soprattutto irraggiamento solare) e alla sua distruzione (reazione con inquinanti, decomposizione per catalisi eterogenea su polveri sospese ecc...). Inoltre, l' H_2O_2 contenuta nelle precipitazioni nevose rimane stabile per tempi estremamente elevati (dell'ordine di migliaia di anni) e dato che essa si forma essenzialmente attraverso processi fotochimici (massima produzione nei mesi estivi), costituisce un prezioso marker stagionale nello studio dei profili concentrazione/profondità di carote di ghiaccio provenienti dalle aree polari. La misura diretta e continua di H_2O_2 con metodi in flusso risente, però, di un effetto di smoothing, dovuto al volume morto del sistema analitico di misura. Diviene, quindi, difficile risalire al valore di concentrazione effettivamente presente nel campione dalla risposta del detector. Questo è particolarmente vero nel caso che il campione, esaminato in continuo, presenti elevate variazioni di concentrazione nell'arco di piccoli intervalli di tempo (misure dirette nell'atmosfera) o di piccole variazioni di profondità (analisi in continuo di carote di neve).

Un sistema spettrofluorimetrico capace di determinare in continuo H_2O_2 nelle matrici sopra menzionate è stato messo a punto da questo gruppo di ricerca ed ottimizzato per ottenere elevate sensibilità (D.L. = 10 ppt) e riproducibilità (dev. std rel. < 3% per concentrazioni > 0.1 ppb). L'applicabilità di tale metodo e l'affidabilità del valore delle concentrazioni misurate al detector, rispetto ai valori teorici attesi, sono state verificate attraverso la simulazione sperimentale di campioni che presentino differenti variazioni di concentrazione. Il sistema di simulazione è costituito da due pompe peristaltiche, una collegata ad uno standard di concentrazione nota e una al solo solvente (H_2O Milli Q), così da poter ricostruire un vasto campo di gradienti di concentrazione. Una curva di calibrazione, costruita sulla base della concentrazione effettivamente prodotta in funzione delle velocità relative delle due pompe peristaltiche, permette di conoscere con esattezza il valore di concentrazione della soluzione che arriva in ogni momento al detector. In tal modo è possibile valutare l'accuratezza della risposta del detector in relazione alla velocità di variazione della concentrazione (gradiente di concentrazione). Il sistema è stato testato simulando variazioni cicliche di concentrazione di H_2O_2 , simili a quelle, tipicamente stagionali, rilevate in carote di ghiaccio prelevate in Antartide. Nel caso di gradienti di concentrazione troppo elevati per permettere la determinazione della concentrazione direttamente dalla risposta del detector, è stata utilizzata una funzione di restituzione in grado di ricostruire il valore vero della concentrazione istantanea.

FORMALDEIDE E PEROSSIDO D'IDROGENO NELL'ATMOSFERA E NELLE PRECIPITAZIONI. EQUILIBRIO DI RIPARTIZIONE E SOLUBILITÀ.

O. Largiuni, R. Udisti, G. Piccardi.

*Dipartimento di Sanità Pubblica e Chimica Analitica Ambientale - Università di Firenze
Via G. Capponi, 9 - Firenze*

Le concentrazioni di formaldeide e di perossido d'idrogeno nell'atmosfera ed in campioni di pioggia sono stati determinate, nel corso di due anni, con metodi spettrofluorimetrici in Flow Analysis. Le concentrazioni di questi componenti sono collegate alla capacità ossidante dell'atmosfera ed è quindi importante seguirne la variazione giornaliera e stagionale.

H₂O₂ proviene principalmente da reazioni radicaliche nell'atmosfera iniziate da processi di fotolisi mentre HCHO è un intermedio nel ciclo dell'ossidazione fotochimica di idrocarburi nell'atmosfera. In aree remote il principale contributo di HCHO deriva dall'ossidazione del metano; nelle nostre zone invece la sua origine è prevalentemente antropica, essendo emesso direttamente nell'atmosfera.

Per la determinazione di HCHO viene utilizzato il metodo analitico di Nash basato sulla reazione di Hantzsch nella quale HCHO, NH₃ ed acetilacetone reagiscono formando un composto fluorescente, la diacetilididrolutidina. H₂O₂ viene determinata utilizzando la formazione del dimero fluorescente dell'acido paraidrossifenilacetico per reazione dell'acido stesso con H₂O₂ in presenza dell'enzima perossidasi come catalizzatore.

La stazione di campionamento è situata all'interno dell'Orto Botanico dell'Università di Firenze.

Il campionamento dell'atmosfera viene eseguito aspirando attraverso una spirale a cui viene contemporaneamente inviato un carrier; il carrier forma sulle pareti della spirale un film di liquido, garantendo così un'elevata superficie di scambio per i gas e permettendone la solubilizzazione.

La pioggia viene raccolta in un collettore di frazioni collegato ad un campionatore "Wet-Dry"; ciascun campione è equivalente a 0.1 mm di precipitazione

La concentrazione di HCHO nell'atmosfera mostra normalmente un aumento dal primo mattino raggiungendo un massimo vicino delle 12; un secondo massimo si presenta spesso al tramonto. La sua origine è da attribuirsi ad una sua emissione diretta nell'atmosfera, prevalentemente prodotta dal traffico automobilistico.

La concentrazione di H₂O₂ nell'atmosfera raggiunge il suo massimo in corrispondenza del massimo di radiazione solare mentre mostra valori molto bassi durante la notte.

Durante l'arco di un anno si osservano per HCHO valori minimi primaverili. In questo periodo di elevato irraggiamento si ha infatti grande produzione fotochimica di ossidanti (es. O₃) che evidentemente facilita ed accelera la reazione di ossidazione di HCHO.

Per H₂O₂ abbiamo invece massimi estivi e valori molto bassi della concentrazione durante l'inverno, in accordo con quanto già detto riguardo all'origine di tale sostanza.

In genere si rileva una correlazione negativa fra la concentrazione di HCHO e di H₂O₂. L'aumento del livello di HCHO incrementa infatti la concentrazione di H₂O₂ a causa della distruzione fotolitica ($290 \leq \lambda \leq 330$ nm) di HCHO che produce radicali portando alla formazione di H₂O₂. Questo spiega lo sfasamento tra i valori massimi diurni misurati. Appare quindi esistere globalmente una correlazione inversa fra le due sostanze, sebbene ci si trovi spesso davanti ad una grossa variabilità di dati a causa di numerosi fattori: condizioni meteorologiche, presenza di altri inquinanti nell'aria, ecc.

La composizione delle piogge è estremamente variabile. Anche all'interno di uno stesso evento piovoso ci sono acuti cambi di concentrazione delle sostanze disciolte nella pioggia; generalmente le prime frazioni della pioggia mostrano le più alte concentrazioni perché i componenti solubili vengono rapidamente rimossi dalla massa d'aria.

Durante gli eventi piovosi abbiamo sempre riscontrato una diminuzione di H₂O₂ nell'atmosfera, indice della sua solubilizzazione nella pioggia. Tale fenomeno appare meno evidente per HCHO, probabilmente a causa della sua minore solubilità.

Si è riscontrato inoltre che l'equilibrio tra fase gassosa e fase liquida, dettato dalla legge di Henry, non viene raggiunto durante la pioggia per nessuna delle due sostanze.

Non abbiamo evidenziato alcuna correlazione fra le concentrazioni nell'atmosfera e nella pioggia.

LA RUGGEDNESS DI UN METODO RP-HPLC:
STUDI DI ROBUSTEZZA E
SYSTEM SUITABILITY TEST PER DIVERSE FASI STAZIONARIE

V.Gianotti, S.Angelino, M.C.Gennaro

Dipartimento di Chimica Analitica, Università degli Studi di Torino
via P.Giuria, 5 - 10125 Torino

La validazione di un metodo analitico dovrebbe comprendere oltre alla validazione primaria (parametri di precisione, accuratezza, linearità, etc.) uno stadio di validazione secondaria basata essenzialmente su studi di ruggedness, essenziale per una sua facile trasferibilità tra laboratori. Con la parola *ruggedness*, non facilmente traducibile in italiano, si intende la capacità del metodo di fornire una risposta soddisfacente anche in presenza di variazioni non valutabili ma inevitabili che naturalmente influenzano le diverse variabili sperimentali coinvolte. La ruggedness del metodo viene valutata mediante *test di robustezza* che valutano l'influenza sulla risposta di variazioni intenzionali imposte alle variabili, variazioni che sono dello stesso ordine o maggiori di quelle che presumibilmente possono verificarsi in fase di applicazione del metodo (1-2).

In questo lavoro vengono presentati i risultati di test di robustezza effettuati per valutare la ruggedness di un metodo RP-HPLC con reagente di interazione ionica. Come *system suitability test* (3) è stato scelto un esempio di separazione critica: la separazione di una miscela contenente analiti anionici (nitrati e nitriti) e cationici (i tre isomeri della fenilendiamina). La fase mobile è una soluzione acquosa di eptilamina (6.6 mM) a pH = 7.0 per acido o-fosforico.

Il metodo, precedentemente sviluppato ed ottimizzato mediante tecnica di experimental design (4) è stato trasferito su diverse fasi stazionarie commerciali C18 caratterizzate dalle stesse specifiche, imponendo alle variabili considerate variazioni di $\pm 10\%$ rispetto ai valori nominali.

I risultati hanno mostrato, per colonne caratterizzate dalle stesse proprietà, prestazioni e comportamenti diversi per quanto riguarda non solo la risoluzione degli analiti ma anche, sorprendentemente, il loro ordine di eluizione. Risultato questo che mette in guardia dall'applicare in modo acritico un metodo di letteratura.

Anche nei confronti della robustezza del metodo, le fasi stazionarie considerate hanno mostrato comportamenti diversi. La variabile più critica e che quindi deve essere controllata con maggiore accuratezza nella preparazione della fase mobile è risultata il valore del pH: per una delle fasi stazionarie considerate è risultata sufficiente una variazione del 5% rispetto al valore nominale sia a rendere insoddisfacente la risoluzione sia a causare una diversa sequenza nell'ordine di eluizione degli analiti. L'importanza del pH della fase mobile era stata peraltro già considerata nell'interpretazione dei meccanismi che governano la ritenzione in questa tecnica cromatografica.

- 1) Y.Vander Heyden, C.Hartmann, D.L.Massart, L.Michel, P.Kiechle, F.Erni, *Anal.Chim.Acta*, 316 (1995) 15
- 2) D.R.Jenke, *J.Liq.Chromatogr. & Rel.Technol.*, 19 (1996) 1873
- 3) S.Angelino, M.C.Gennaro, A.F.Fell, *J.Chromatogr.A*, 797 (1998) 65
- 4) E.Marengo, M.C.Gennaro, C.Abrigo, *Anal. Chem.*, 64 (1992) 1885

CARATTERIZZAZIONE ANALITICA DI TRACCIANTI ENZIMATICI MEDIANTE ELETTOSPRAY-SPETTROMETRIA DI MASSA

¹Francesco Piazza, ²Rossella Lelli, ²Anna Chiara Manetta, ³Patrizia Simoni, ²Giacomo Migliorati e ¹Aldo Roda

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e ³Dipartimento di Medicina Interna e Gastroenterologia, Università di Bologna, Bologna, ²Istituto Sperimentale Zooprofilattico, Teramo

Enzimi quali perossidasi o fosfatasi alcalina sono ampiamente utilizzati per la preparazione di traccianti nei metodi immunoenzimatici o genici. La sintesi tra tali proteine con piccole molecole o loro derivati deve essere caratterizzata da una buona resa su microscala (μg) e portare ad un derivato stabile e con un elevato rapporto segnale/massa. Attualmente solo attraverso metodi indiretti è possibile definire la struttura e la stechiometria del derivato ottenuto.

A tale scopo è stato messo a punto un metodo diretto per la caratterizzazione mediante spettrometria di massa con interfaccia elettrospray (ES-MS) dei prodotti di reazione tra perossidasi (HRP) ed alcune molecole modello quali β -agonisti (clenbuterolo, salbutamolo) od acidi biliari (acido glicodesossicolico, GDCA). La coniugazione è stata effettuata mediante formazione di amidi o diazoderivati con aminoacidi della proteina utilizzando il metodo dell'anidride mista o della diazotazione. La preparazione dei campioni per l'analisi richiede solo una preliminare desalificazione mediante dialisi o ultrafiltrazione. Le condizioni di impatto positivo (voltage probe 3,48kV, controlettrodo 0,35V, voltage cono 40V, temperatura sorgente 60°C) ed il solvente (acetonitrile/H₂O 50/50 v/v + 1% acido formico) sono stati ottimizzati utilizzando soluzioni di HRP standard. Gli spettri sono stati acquisiti in un intervallo m/z da 400 a 2000 con 4 sec/scan. Lo spettro di massa della perossidasi ha fornito una serie di ioni multicarica che copre un intervallo da 400 a 1600 m/z e, dopo deconvoluzione algoritmica, ha permesso di stimare il peso molecolare della proteina di 43174 ± 44 Da (media \pm DS di 6 analisi).

L'analisi dei prodotti di reazione ha fornito ioni quasi molecolari costituiti da perossidasi che non ha reagito e che ha reagito a seconda del tipo di coniugato considerato nei rapporti molarli 1:4, 1:5, 1:6 nel caso dell'acido glicodesossicolico, 1:2, 1:5, 1:6 per il salbutamolo, e 1:2, 1:4, con il clenbuterolo. Ciò è stato possibile mediante il calcolo dei relativi pesi molecolari ottenuti con coefficienti di variazione inferiori allo 0.1%.

La spettrometria di massa con impatto elettrospray è risultata estremamente utile non solo per meglio definire le condizioni di reazione per la sintesi di traccianti ma anche per ottenere informazioni qualitative e quantitative necessarie ad ottimizzare le condizioni termodinamiche per la messa a punto di un metodo immunoenzimatico e per valutare la stabilità del derivato ottenuto.

Tale metodica può inoltre essere applicata più in generale per l'analisi e l'identificazione accurata di derivati proteina-molecole organiche necessari alla produzione di immunogeni ed antigeni idonei per la preparazione di anticorpi specifici.

ANALISI ED IDENTIFICAZIONE MEDIANTE ELETTROSPRAY-SPETTROMETRIA DI MASSA DI FOSFOLIPIDI E LORO PRODOTTI DI PEROSSIDAZIONE

¹Francesco Piazza, ²Laura Zambonin, ²Laura Landi e ¹Aldo Roda

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e ²Dipartimento di Biochimica, Università di Bologna, Bologna

L'esposizione ad insulti ossidativi di tipo radicalico induce nella cellula un danno strutturale e funzionale con conseguente perdita di vitalità. I principali bersagli dello stress ossidativo risultano i fosfolipidi delle membrane cellulari e subcellulari.

Esistono numerose metodologie per la valutazione quali-quantitativa della perossidazione lipidica ma la rivelazione della lipoperossidazione in cellule vitali è limitata dalla sensibilità troppo bassa per poter individuare i prodotti della perossidazione prima che si attivino i sistemi cellulari di riparazione.

Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare le potenzialità di impiego della spettrometria di massa con interfaccia elettrospray (ES-MS) nello studio della lipoperossidazione ed in particolare delle modifiche strutturali indotte ai fosfolipidi stessi. A tal fine sono stati studiati alcuni fosfolipidi standard: L- α -fosfatidilicolina, dipalmitoil (PCDP), L- α -fosfatidilicolina, β -arachidonoil- γ -palmitoil (PCAP), L- α -fosfatidilicolina, β -oleoil- γ -palmitoil (PCOP) e L- α -fosfatidiletanolamina, β -linoleoil- γ -palmitoil (PELP), i quali sono stati sottoposti a perossidazione in presenza di 2,2'-azobis(2,4-dimetilvaleronitrile) (DMVN). L'impatto ES positivo è stato ottimizzato dopo loop-injection degli standards nelle seguenti condizioni operative: fase mobile MeOH/H₂O (90/10 v/v, pH 5.8 per acetato di ammonio 15 mM, flusso alla sorgente 15 μ l/min), voltaggio probe 4.60 kV, voltaggio controelettrodo 0.4 V, voltaggio cono 70 V, temperatura della sorgente 69°C. Gli spettri di massa così ottenuti presentano in tutti i casi intensi picchi di ioni quasi molecolari [M+H]⁺, accompagnati da picchi di minore intensità dovuti ad addotti del sodio.

Sono stati quindi iniettati i campioni singoli o in miscela (200 ng/inj) in tempi successivi ed analizzati. Dagli spettri di acquisizione si può osservare la comparsa nel tempo di specifici prodotti di perossidazione con contemporanea riduzione dell'intensità dei picchi molecolari. Si è potuto anche stimare la formazione di frammenti, doppie cariche, addotti e dimeri.

I risultati ottenuti dimostrano come la tecnica elettrospray-spettrometria di massa sia in grado di rilevare fosfolipidi e loro perossidi in quantità inferiori a 10⁻¹² moli ed aprono prospettive di analisi quantitative oltre che qualitative combinando tale tecnica con HPLC o elettroforesi capillare che permettono di isolare minime quantità di lipoperossidi da matrici anche complesse.

USO DELLA BRASSICA OLERACEA NEL BIOMONITORAGGIO ATTIVO DEGLI IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (PAH) DA TRAFFICO VEICOLARE

G.Ardito^a, G.Badino^b, D.Gastaldi^c, A.Lepora^c, M.Orsi^d, G.Ostacoli^c, V.Zelano^c.

^a SITAF s.p.a., Torino; ^b Dipartimento di Biologia animale, Università di Torino; ^c Dipartimento di Chimica Analitica, Università di Torino; ^d Consulagri s.r.l., Torino.

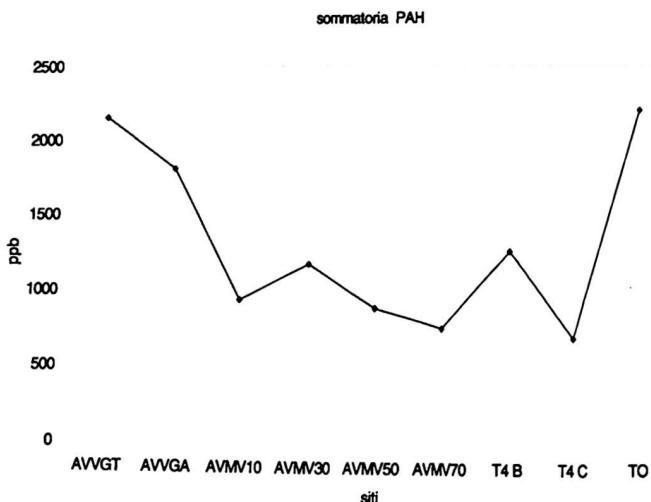
La Brassica Oleracea Acephala, una varietà di cavolo, è impiegata per un progetto di biomonitoraggio dei PAH nell'area adiacente l'autostrada A32, che collega Torino al traforo del Frejus, verso la Francia.

Il progetto si propone di valutare la dispersione dei PAH in relazione sia alle diverse sorgenti di emissione, con particolare attenzione al traffico veicolare, sia ai fattori stagionali e climatici. Nel contempo mira ad approfondire le potenzialità della Brassica Oleracea come specie bioaccumulatrice di inquinanti organici dal punto di vista dell'analisi ambientale ed anche nell'ambito degli esperimenti di Bioremediation.

Il cavolo assorbe molto bene i microinquinanti organici dell'atmosfera per il suo alto rapporto superficie/volume e per la cuticola cerosa che ricopre le sue foglie. Quest'ultima costituisce però un problema analitico sia nella fase estrattiva, poiché la concentrazione degli estratti provoca la precipitazione dei composti cerosi, che nello stadio di analisi GC-MS, a causa della massiccia presenza di idrocarburi lineari ad alto PM nella zona cromatografica tipica di alcuni degli analiti.

Utilizzando come solvente esano ed aggiungendo a ciascuna porzione di campione fresco una miscela di standard interni deuterati, sono state confrontate 3 tecniche estrattive: una classica estrazione Soxhlet, un' estrazione con ultrasuoni a 3 stadi, ed una procedura di saponificazione con potassa metanolica seguita da estrazione. Le rese quantitative dei 3 metodi non differiscono significativamente, ma nel caso della saponificazione l'estratto concentrato è limpido ed il cromatogramma esente da coeluzioni indesiderate. La determinazione quantitativa utilizza fattori di normalizzazione calcolati rispetto ai composti deuterati.

Si è scelto un biomonitoraggio di tipo attivo, più standardizzabile, e sono stati analizzati i PAH prioritari EPA sui campioni esposti durante l'inverno 1997-98. Gli 8 siti di campionamento si trovano in tre zone del tracciato considerato: l'abitato di Torino, l'area di Avigliana, una cittadina di 10000 abitanti a 26 Km da Torino, e la zona in prossimità del traforo, vicino a Bardonecchia. Due siti sono urbani: quello torinese (TO) ed uno all'interno del perimetro cittadino di Avigliana (AVVG); altri 4 sono posti rispettivamente a 10, 30, 50 e 70 m dal ciglio autostradale ancora nell'area di Avigliana (AVMV10, AVMV30, AVMV50, AVMV70), e gli ultimi 2 si trovano l'uno all'imboccatura del traforo del Frejus (T4 B), e l'altro a 300 m da questo, verso l'abitato di Bardonecchia (T4 C).



Ancora: in uno dei siti considerati, quello al centro di Avigliana, accanto ai campioni posti in terra (AVVGT) sono stati collocati dei moduli sperimentali di coltura aeroponica, per esporre campioni di Brassica coltivati con una tecnica che libera la pianta da qualsiasi contatto col suolo e coi suoi contaminanti (AVVGA). La fonte di inquinamento è in questo caso riducibile al solo contatto con l'atmosfera, il confronto coi campioni in terra consente dunque di valutare l'entità dell'assunzione di PAH dal terreno rispetto a quella legata all'aria.

Un primo elemento che si è evidenziato confrontando i risultati coi dati esistenti in letteratura è che in tutti i siti i campioni esposti presentano un recupero di PAH molto significativo, che raggiunge le punte massime nei due siti urbani.

Confrontando per il sito di Avigliana i cavoli in terra con quelli coltivati nel modulo aeroponico, si può ipotizzare che l'assunzione di PAH dal suolo non sia nulla, ma la fonte prevalente resta comunque l'atmosfera, poiché la differenza tra i due tipi di campioni è dell'ordine del 15% (comunque superiore all'incertezza della misura).

La sede stradale è prossima sia ai restanti 4 siti di Avigliana che a quelli di Bardonecchia, ed effettivamente l'entità dell'inquinamento, presumibilmente legato al solo traffico veicolare, è in essi comparabile, come confrontabili sono gli inquinamenti dei 2 siti cittadini. Qui al traffico più intenso si aggiungono altre emissioni, tra cui quelle dei riscaldamenti domestici (siamo nel periodo invernale, durante il quale inoltre - a causa dell'abbassamento di temperatura - aumenta la frazione di analiti in fase condensata, la cui deposizione sulle piante risulta quindi aumentata).

I campioni posti a diverse distanze dal ciglio della strada mostrano che la dispersione spaziale degli analiti ha un massimo non a 10 ma a 30 m, e va lentamente diminuendo - senza tuttavia scomparire - andando verso l'esterno. Leggermente più contaminato di tutti gli altri siti "autostradali" risulta essere il sito prossimo all'imbocco del traforo, dove probabilmente i veicoli sono rallentati o incolonnati.

Da ultimo, in base ai profili dei vari PAH, si è potuto osservare che gli analiti più significativi sono proprio quelli che in letteratura attribuiscono agli scarichi dei motori diesel ed alle varie combustioni tipiche delle zone urbane: il fenantrene, il fluorantene, il pirene, il benzo(a)antracene, il crisene, ecc.

SISTEMI ANALITICI AVANZATI PER STUDI DI PROCESSI DI BIODEGRADAZIONE IN ACQUE DI SCARICO

E. Scarano, E. Bottari, M.R. Festa, M. Mantarro

Dipartimento di Chimica, Università «La Sapienza», P.le A. Moro 5, Roma

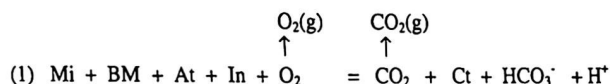
G.E. Pellegrini

Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità, V.le R. Elena, Roma

Sono stati sviluppati sistemi analitici bio-elettrochimici per studi attendibili, di basso costo e rapidi di processi microbiologici in acque di scarico, basati su:

- (a) tecniche analitiche NDIM (non-distruttive, non-invasive, non manipolative),
- (b) sensori specifici di alta prestazione per biossido di carbonio (CO₂ - SS) ed ossigeno (O₂ - SS).

Lo schema generale dei processi può essere rappresentato con la seguente Equazione:



dove: H₂O è omessa, Mi = microrganismi; BM = materiale organico biodegradabile; At = agenti attivanti; In = agenti inibitori; Ct = cataboliti; O₂, CO₂ = ossigeno, biossido di carbonio sciolti; O₂(g), CO₂(g) = ossigeno, biossido di carbonio in contatto con la fase gassosa, a pressione parziale gassosa P_{O₂} e P_{CO₂}.

Gli studi possono riguardare i componenti Mi, BM, At, In, Ct, O₂ e CO₂ (v. Tabella I); oggetto delle determinazioni (analiti) sono O₂ e CO₂.

Dal campione di acqua di scarico, chiuso in un recipiente di vetro, vengono prelevate quantità molto piccole di O₂ e CO₂ gas (proporzionali a P_{O₂} e P_{CO₂}), mediante una membrana tubolare di silicone, e portate ai sensori. I segnali dei sensori (E, mV) sono misurati in funzione del tempo (t) (Metodi 1-4).

Alternativamente, P_{CO₂} è determinata su un gas vettore (aria sterilizzata, con P_{CO₂} nota) dopo averlo fatto gorgogliare attraverso il campione di acqua di scarico (Metodo 5).

Le curve E *versus* t sono interpretate facendo riferimento alle curve di calibrazione.

Tabella I. Metodi Analitici

Metodo	Analita	Tipo di studio
1	O ₂	Disponibilità ossigeno
2	O ₂	Consumo ossigeno ⁽¹⁾
3	CO ₂	Produzione CO ₂ ⁽¹⁾
4	CO ₂	Produzione CO ₂ ⁽²⁾
5	CO ₂	Velocità di produzione CO ₂ a P _{O₂} costante

⁽¹⁾ BOD (richiesta biochimica di ossigeno) continuo

⁽²⁾ BOD discontinuo (prima della misura di P_{CO₂}, il pH della soluzione è portato a 0 con HCl)

Dalla ricerca di base, seguono applicazioni come quelle riportate in Tabella II.

Tabella II. Applicazioni

Componente	Applicazioni
Mi	problemi igienico - sanitari presenza di microrganismi in (aria, acqua e) acque di scarico
BM	efficienza e controllo di popolazioni di microrganismi velocità di biodegradabilità e resa biodegradabilità di molecole nuove
At	efficienza degli additivi
In	metalli pesanti e inquinamento da VOC (VOC = Composti organici volatili)
O ₂	disponibilità ossigeno per biodegradabilità microaerofilia
CO ₂	fotosintesi, velocità di respirazione
Ct	velocità di bioconversione e resa

TECNICHE TERMOANALITICHE APPLICATE AD ANALISI FORENSE: DISTINZIONE TRA AVORIO DI ELEFANTE O MAMMUTH.

*S.Materazzi°, R.Curini°, A.Gentili°, G.D'Ascenzo° e F.Burragato**

*° Dip. di Chimica e Dip. di Scienze della Terra
Università degli Studi di Roma "La Sapienza" p.le A.Moro 5 - 00185 - ROMA*

L'interesse forense per la caratterizzazione dei vari tipi di avorio è notevolmente aumentato da quando le leggi nazionali e le direttive europee proteggono le specie in via di estinzione (ad esempio gli elefanti), mentre attualmente non ci sono vincoli per le specie estinte. I mammoth possono essere facilmente trovati nel permafrost siberiano tanto che questo viene riportato come unica fonte di tale avorio; d' altra parte, il contrabbando di avorio di elefante africano è sempre più frequente a causa del basso prezzo di acquisto.

L'attuale procedura di identificazione forense prevede l'analisi degli angoli interni ed esterni della tessitura dell'avorio: tale procedura, effettuata su sezioni lucide del pezzo in esame, ovviamente prevede un danno irreparabile nel caso si stia esaminando una statua, un manufatto, un reperto antico, ecc. in quanto bisogna effettuare sezioni su piani privilegiati.

Diventa quindi importante poter disporre di una tecnica di analisi non macroscopicamente distruttiva (analisi su pochi milligrammi di campione), per potere analizzare anche campioni di valore o di importanza storica.

Si è pertanto messa a punto una metodica di analisi che, mediante l'analisi termogravimetrica (TG) permette di identificare se si tratta di avorio elefantino o di mammoth: la prerogativa di tale tecnica è di avere una elevata sensibilità anche con campioni di piccole entità (pochi milligrammi), grande accuratezza e riproducibilità, e richiede brevi tempi di analisi; tutte queste caratteristiche rendono la termoanalisi un potente mezzo di indagine con le peculiarità di una analisi accettata a livello forense, migliorando sensibilmente la metodica attuale. Inoltre, la possibilità di analizzare campione anche in polvere, permette l'analisi di qualsiasi reperto o corpo di reato in quanto è possibile "grattare" pochi milligrammi in qualsiasi punto (anche nascosto) ed evitare così danni visibili o irrimediabili perdite.

Come è possibile notare dalle curve termogravimetriche, uno shift del processo di perdita nel range di temperatura 750 - 900 °C, meglio evidenziato nella derivata prima della curva TG rispetto al tempo (curva DTG), caratterizza i due diversi tipi di avorio.

Vengono riportati esempi di campioni reali, confrontati con standard ottenuti in collaborazione con musei italiani e stranieri, e parallelamente i valori degli angoli di Schreger, ottenuti da sezioni lucide, misurati con la metodica classica.

**DETERMINAZIONE DELLE COSTANTI DI FORMAZIONE DI ALCUNI
 COMPLESSI METALLICI DELLA COPROPORFIRINA-I MEDIANTE RP-HPLC.
 VALUTAZIONE DELLA LORO STABILITÀ FOTOCHEMICA MEDIANTE MISURE
 CINETICHE E FLUORIMETRICHE.**

R. Giovannetti, V. Bartocci°, S. Ferraro°, A.M. Quaranta°.*

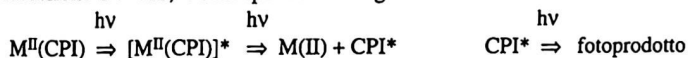
**Centro Interdipartimentale Grandi Apparecchiature, P.le G.da Varano, Università di Camerino.*

°Dipartimento di Scienze Chimiche, Via S.Agostino,1, Università di Camerino.

La determinazione spettrofotometrica delle costanti di stabilità dei complessi della Coproporfirina-I (CPI) con Co(II), Mn(II), Zn(II), Ni(II) e Cu(II) non risulta possibile, sia perchè tali costanti risultano molto alte, sia perchè generalmente la differenza di lunghezza d'onda tra il picco della CPI e quella dei complessi non permette la valutazione esatta delle assorbanze. In questo lavoro abbiamo studiato la possibilità di tale determinazione mediante la tecnica RP-HPLC, viste le sue potenzialità nella separazione dei complessi della CPI¹. I risultati ottenuti con separazione HPLC su colonna C18 (5µm, 4.6x150 mm) con soluzione eluente metanolo-acqua 69:31 (v/v) (tampone pH 7, I=0.2460 moli/l, NaCl 0.0252 moli/l), flusso 0.6 ml/min, hanno dimostrato che tra i complessi studiati la stabilità decresce secondo questo ordine: Mn^{III}(CPI) > Cu^{II}(CPI) > Co^{II}(CPI) > Ni^{II}(CPI) > Zn^{II}(CPI).

Variando la concentrazione di Cl⁻ nell'eluente¹ (>di 0.05 moli/l), il complesso Zn^{II}(CPI), presentava uno sdoppiamento del segnale cromatografico che dimostra che in tale complesso lo ione metallico riesce a coordinare diversi anioni. Lo studio spettrofotometrico relativo alla determinazione delle costanti cinetiche per il complesso Zn^{II}(CPI) ha dimostrato che l'anione coordinato allo Zn(II) influenza la velocità di reazione nell'ordine: nitrato > acetato > cloruro. La stessa influenza è stata osservata nelle energie di attivazione dei vari complessi; andamento opposto è stato osservato invece per i valori delle entropie di attivazione. Una spiegazione di tale comportamento può essere data supponendo che il metallo nel complesso Zn^{II}(CPI) abbia dimensioni diverse per la diversa solvatazione dovuta all'anione coordinato.

Lo studio fotochimico dei complessi Zn^{II}(CPI), Cu^{II}(CPI), Co^{II}(CPI), Ni^{II}(CPI), Mn^{III}(CPI), Hg^{II}(CPI), Cd^{II}(CPI), Pb^{II}(CPI) e della CPI ha dimostrato che la fototrasformazione interessa soltanto la CPI e i complessi Zn^{II}(CPI), Hg^{II}(CPI), Cd^{II}(CPI) e Pb^{II}(CPI). È già stato osservato² che la fotoreazione della CPI è in realtà una fotoreduzione che inizia all'interno dell'anello porfirinico, viste le limitazioni risultanti da pH troppo acido o dal complessamento con Cu(II) o Co(II), che comporta saturazione dei doppi legami C=C a ponte tra gli anelli pirrolici; prodotto di tale reazione è il porfirinogeno, composto incolore che presenta livelli di assorbimento a energie superiori. Lo stesso tipo di prodotto si ottiene dalle fotoreazioni dei complessi in questione con liberazione dello ione metallico; dall'osservazione degli spettri a vari tempi di esposizione alla radiazione UV-VIS, è stato ipotizzato il seguente meccanismo:



Da un'attenta osservazione dei risultati si nota che questo tipo di fotoreazioni interessa solo i complessi della CPI con i metalli diamagnetici con la shell chiusa che non comportano variazioni dell'elettrifilicità della molecola; l'alta valenza del metallo inoltre rende i carboni β pirrolici sufficientemente carichi per essere ridotti. Poichè quindi la fotoreduzione del legante comporta l'aggiunta di idrogeno ai doppi legami C=C, è facile ipotizzare che il meccanismo che riguarda le fototrasformazioni dei complessi sia analogo a quello che comporta la fototrasformazione del legante. Confrontando le costanti di fototrasformazione con quelle cinetiche relative ai tre tipi di complessi Zn^{II}(CPI), risulta che esse correlano. La correlazione risultante indica che gli incrementi della costante di velocità nella formazione del complesso e della costante di fototrasformazione hanno una stessa causa: laddove lo Zn(II) è più solvatato e quindi reagisce più rapidamente viste le sue dimensioni, è anche più distante dall'anello porfirinico con conseguente minore affollamento nella zona dove ha inizio la fototrasformazione. Lo studio fluorimetrico ha provato che soltanto i complessi che subiscono fototrasformazione presentano anche fluorescenza a temperatura ambiente. La "resa" di fluorescenza, calcolata come Φ/(moli l⁻¹), decresce con l'aumentare del numero

atomico e quindi con il raggio ionico del metallo centrale, nell'ordine: $Zn^{II}(CPI) > Cd^{II}(CPI) > Hg^{II}(CPI) > Pb^{II}(CPI)$, ed è in media da 10 a 1000 inferiore a quella della stessa CPI.

La velocità di fototrasformazione decresce invece nell'ordine $Pb^{II}(CPI) > Hg^{II}(CPI) > Cd^{II}(CPI) > Zn^{II}(CPI)$; questo ci lascia ipotizzare che, laddove la resa di fluorescenza è alta, minore è l'effetto della radiazione luminosa nella fotoreazione. Inoltre il fatto che le costanti di fototrasformazione aumentino all'aumentare del raggio ionico sta a significare che il minore ingombro dovuto alla maggiore distanza anello-metallo favorisce l'inizio della fotoreazione.

- 1) R.Giovannetti, V.Bartocci, *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, in corso di stampa (1998).
- 2) R.Giovannetti, V.Bartocci, S.Ferraro, M.Gusteri, P.Passamonti, *Talanta*, **42**, 1913, (1995).

EVIDENZE CINETICHE NEI MECCANISMI DELLE REAZIONI TRA COPROPORFIRINA-1 E
ALCUNI IONI METALLICI.
DETERMINAZIONE CATALITICA DI TRACCE DI Hg(II), Cd(II) E Pb(II).

R. Giovannetti*, V. Bartocci°, P. Passamonti°, M. Malavolta°.

*Centro Interdipartimentale Grandi Apparecchiature, P.le G. da Varano, Università di Camerino.

°Dipartimento di Scienze Chimiche, Via S. Agostino, 1, Università di Camerino.

La Coproporfirina-1 (CPI) come tutte le porfirine è un reagente molto importante dal punto di vista analitico perchè forma con molti ioni metallici complessi molto stabili, sebbene, limitatamente ad alcuni di essi, con basse velocità di reazione. È stato infatti osservato che la reazione di formazione del complesso $\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})$ è circa 2×10^3 volte più lenta rispetto alla formazione di $\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})$ e 1×10^7 volte più lenta rispetto alla formazione di $\text{Hg}^{\text{II}}(\text{CPI})$, mentre la velocità di formazione del complesso $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{CPI})$ è circa 2×10^3 volte più bassa rispetto alla formazione di $\text{Cd}^{\text{II}}(\text{CPI})$; queste reazioni possono essere accelerate significativamente dalla presenza di Pb(II), di Hg(II) o Cd(II). Questi metalli, viste le loro dimensioni, non possono ben adattarsi al centro dell'anello porfirinico ma si posizionano sopra il piano per formare i complessi $\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})$, $\text{Hg}^{\text{II}}(\text{CPI})$ e $\text{Cd}^{\text{II}}(\text{CPI})$, che sono, rispettivamente, circa da 10^3 a 10^7 volte più reattivi della CPI nei confronti del Co(II) o del Mn(II); in questi complessi infatti, il piano si deforma preferenzialmente per l'incorporazione di ioni metallici di media grandezza come il Co(II) o il Mn(II) in modo che la coppia elettronica sull'azoto di pirrolic dell'anello porfirinico può essere disponibile per lo ione metallico entrante. Lo stesso meccanismo è stato verificato da altri autori in recenti studi sulle reazioni di metallazione di altre porfirine².

I parametri di attivazione danno utili informazioni sui meccanismi di reazione. Ad esempio, nel caso della reazione tra Pb(II) e CPI, l'elevata entalpia di attivazione ΔH^\ddagger ($105.70 \text{ kJ mol}^{-1}$) osservata e il valore positivo dell'entropia ΔS^\ddagger ($146.09 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) supportano il meccanismo suggerito per la formazione di $\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})$ spiegato in termini di deformazione dell'anello porfirinico. Infatti la deformazione di un sistema π altamente coniugato richiede un'entalpia positiva. Questa deformazione porta ad un valore positivo di ΔS^\ddagger dovuto ad un incremento delle libertà intermolecolari di "stretching" e "bonding" dell'anello della porfirina. Per il completamento della reazione di metallazione della CPI, è richiesto il rilassamento dei protoni N-H dell'anello; una bassa deformazione dell'anello si ha nella reazione della CPI con il Co(II); infatti il valore di ΔH^\ddagger ($53.89 \text{ kJ mol}^{-1}$) osservato in questa reazione, insieme al valore negativo di ΔS^\ddagger ($-37.01 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) mostrano un abbassamento delle libertà intermolecolari dell'anello porfirinico. Inoltre il valore di ΔS^\ddagger per la reazione della CPI con Pb(II), è più grande del corrispondente valore della reazione della CPI con Co(II) relativo alla formazione di un processo non catalizzato, prova che nel complesso attivato $[\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})]^\ddagger$ l'anello porfirinico è più deformato che in $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})]^\ddagger$. Quando il Co(II) reagisce con la CPI in presenza di Pb(II), i valori ΔH^\ddagger (9.32 kJ mol^{-1}) e ΔS^\ddagger ($-112.75 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) provano che in $[\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})]^\ddagger$ le libertà intermolecolari decrescono rispetto a quelle di $[\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})]^\ddagger$. Questo indica che il Co(II) è incorporato più facilmente nel complesso $\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})$ che nella stessa CPI. Così si può concludere che, nel processo di formazione di $\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})$ catalizzato da Pb(II), esiste un pre-equilibrio che porta alla formazione di $[\text{Pb}^{\text{II}}(\text{CPI})]^\ddagger$ con deformazione dell'anello porfirinico, che determina la velocità di reazione.

Gli studi cinetici di queste reazioni catalizzate hanno anche dimostrato che le velocità di reazione nella formazione di $\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})$ o di $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{CPI})$ dipendono principalmente dalla concentrazione del metallo catalizzatore, in quanto è il primo stadio, cioè quello che porta alla formazione dell'intermedio, che determina la velocità di reazione. Questo importante risultato, è stato utilizzato vantaggiosamente nella determinazione di tracce di Hg(II), Cd(II) e Pb(II): applicando infatti il metodo del tempo fisso, cioè portando in grafico l'assorbanza relativa al complesso che presenta cinetica lenta ($\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})$ o $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{CPI})$) a portando in grafico l'assorbanza relativa al complesso che presenta cinetica lenta ($\text{Co}^{\text{II}}(\text{CPI})$ o $\text{Mn}^{\text{III}}(\text{CPI})$) a diverse concentrazioni di ione metallico catalizzante (Hg(II), Cd(II) o Pb(II)), per un tempo di reazione determinato, si osservano andamenti lineari che rappresentano egregiamente rette di taratura per la determinazione di Hg(II), Cd(II) o Pb(II). In questo modo si è resa possibile la determinazione dei suddetti metalli con limiti di rilevabilità nell'ordine dei ppb; da un confronto dei valori delle sensibilità con altri metodi spettrofotometrici, ne risulta che il metodo proposto, dopo 300 secondi dall'inizio della reazione, è

all'incirca 10 volte più sensibile per Cd(II) ($S = 0.182 \text{ ng/cm}^2$) e Pb(II) ($S = 2.263 \text{ ng/cm}^2$), mentre 5 volte più sensibile per Hg(II) ($S = 0.619 \text{ ng/cm}^2$)³.

- 1) Bartocci, V., Giovannetti, R., and Carsetti, E., 1998, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2**, 1. *Il Mn(II) nella reazione con CPI si ossida per formare il complesso Mn^{III}(CPI)*.
- 2) M. Tabata, 1995, *J. of Molec. Liq.*, **65**, 221.
- 3) H.H. Perkampus, 1992, *UV-VIS Spectroscopy and Its Applications*, Springer laboratory.

PRE-CONCENTRAZIONE ED ANALISI GC-MS DEI CFC E DEI LORO SOSTITUTI (HCFC, HFC) IN CAMPIONI DI ARIA PROVENIENTI DA AREE REMOTE

F. Mangani, L. Lattanzi, M. Maione

*Università degli Studi di Urbino
Istituto di Scienze Chimiche "F. Bruner"
Piazza Rinascimento, 6
61029 URBINO*

In seguito alla messa al bando dei clorofluorocarburi (CFC), legata alla loro nocività nei riguardi dell'ozono stratosferico, l'industria chimica ha sviluppato negli anni passati composti di sintesi che, pur avendo le stesse caratteristiche positive dei CFC, sono potenzialmente molto meno dannosi per lo strato di ozono. Si tratta degli idroclorofluorocarburi (HCFC) e degli idrofluorocarburi (HFC) i quali essendo soggetti ad attacco da parte dei radicali ossidrilici, vengono degradati già nella troposfera. Pertanto essi non sono in grado di raggiungere inalterati la stratosfera per dare inizio alle reazioni catalitiche a catena che portano alla distruzione della fascia di ozono.

Tuttavia il loro impatto sull'ambiente, in termini di potenziale di deplezione dell'ozono, potenziale di riscaldamento globale e capacità di dare luogo a prodotti di degradazione nocivi, non può essere trascurato. Di conseguenza si rende necessario il monitoraggio di tali composti.

Gli HCFC e gli HFC sono presenti nella troposfera a livelli di concentrazione decisamente più bassi rispetto ai CFC. Si tratta, infatti, di rapporti di mescolamento atmosferici dell'ordine delle poche decine di parti per trilione (10^{-12} v/v). Ciò implica che l'analisi gas cromatografica debba essere necessariamente preceduta da una fase di arricchimento del campione.

La scelta dell'adsorbente utilizzato per l'arricchimento deve tenere conto dei bassi livelli di concentrazione e dell'elevata volatilità dei composti da analizzare.

E' stata quindi valutata l'efficienza di un carbone grafitato ad alta area superficiale (HSGCB, 560 m²/g). A questo scopo sono stati calcolati i Break Through Volume degli alocarburi più volatili alla temperatura di 25°C.

Per l'arricchimento di campioni reali nei quali devono essere determinati contemporaneamente alocarburi di volatilità e concentrazioni diverse, è stata utilizzata una trappola multistrato contenente 150 mg di HSGCB e 50 mg di Carbograph 1 (Alltech, Deerfield, IL, USA), la cui area superficiale è di circa 90 m²/g. Questo tipo di trappola consente di effettuare la pre-concentrazione del campione a temperatura ambiente, evitando così l'uso di criogeni. Gli analiti adsorbiti sulla trappola sono stati trasferiti nel sistema GC-MS per desorbimento termico.

L'analisi gas cromatografica è stata effettuata per mezzo di una colonna GLOT (graphite layer open tubular) lunga 90 m, preparata "ad hoc" per questo tipo di separazione, mentre come rivelatore è stato utilizzato uno spettrometro di massa quadrupolare (MSD 6890, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA) operante in frammentografia.

RITENZIONE DI COMPOSTI NEUTRI NELLA CROMATOGRAFIA DI INTERAZIONE IONICA

T. Cecchi, S. Ferraro, P. Passamonti, U. Biader Ceipidor e F. Pucciarelli.

Dipartimento di Scienze Chimiche

Via S. Agostino, 1 - 62032 - Camerino (MC)

La ritenzione di molecole neutre aprotiche nella cromatografia di interazione ionica è stata qui studiata approfonditamente partendo dalle considerazioni già esistenti in letteratura (1). Lo studio dimostra che la ritenzione per una fase mobile acquosa contenente il reagente di interazione ionica (I.I.R.) nell'intervallo di concentrazioni che va da 0 a 25 mM, diminuisce all'aumentare della concentrazione dello reagente stesso. Nell'indagine effettuata si è tenuto conto delle interazioni silanofiliiche, paragonando i risultati ottenuti con una fase stazionaria C18 supportata su una base silicea e su una base non ionogena tipo stirene-divinilbenzene (SDVB) sotto condizioni perfettamente identiche. Si è dimostrato che i fattori che influenzano la ritenzione degli analiti usati come "modelli" sono trattabili teoricamente. Per questo motivo possiamo dire che la modificazione chimico-fisica della fase stazionaria in presenza dell'I.I.R. nell'eluento e la competizione tra gli analiti di prova e l'I.I.R. nei confronti dell'adsorbimento sui siti dell'inner-layer cambiano il coefficiente di ripartizione delle molecole neutre nel senso di diminuirne la ritenzione in colonna. Si è tenuto conto dell'influenza dei parametri sperimentali sulla cromatografia di interazione ionica delle molecole neutre. Sono state sperimentate variazioni relative alla forza ionica e al modificatore organico per elucidare esaurientemente la loro influenza sui parametri di ritenzione. Con questo studio abbiamo voluto dimostrare che l'ipotesi finora accettata (2) sull'indipendenza del fattore di capacità delle molecole neutre dalla concentrazione dell'I.I.R. nell'eluento durante la cromatografia di interazione ionica può essere vista come un caso limite della teoria qui da noi proposta.

- 1) M.C. Gennaro, *Advances in Chromatography*, **35**(1995)343-381.
- 2) B.A. Bidlingmeyer, S.N. Deming, W.P. Price Jr., B. Sachok, M. Petrussek, *J. Chromatogr.*, **186**(1979)419-434.

LC/MS ANALYSIS OF PHENOLIC ACIDS USING A CAPILLARY-SCALE PARTICLE BEAM INTERFACE

*Cappiello, Achille**; *Famiglioni, Giorgio**; *Careri, Maria°*; *Lombardi, Paola°*; *Mucchino, Claudio°*

**Istituto di Scienze chimiche, Università di Urbino, Urbino, Italy*

°Dipartimento di Chimica Generale ed Inorganica, Chimica Analitica, Chimica Fisica, Università di Parma, Parma, Italy

Phenolic acids have a great importance in defining the sensorial characteristics of wines and brandies. Their presence and abundance is often related to the storage conditions and the ageing process. Moreover, phenolic acids show an hormonal activity in plant growth and, more generally, they cover a multiplicity of functions in plant metabolism. The analysis of such substances rely exclusively on HPLC-based techniques, with detection accomplished by spectrophotometric, electrochemical and mass spectrometric methods. In particular, mass spectrometry offers a high degree of identification capability for the characterization of complex mixtures in real samples. Particle beam interfacing can be successfully employed for the analysis of phenolic acids but imposes severe restrictions in the use of water or buffers in the mobile phase, allowing only normal-phase separating conditions. Capillary-scale particle beam interfacing is a well established technique based on a reduced mobile phase flow rate for a problem-free LC/MS coupling under EI conditions. Its use in the analysis of phenolic acid represents the subject of this work. 8 phenolic acids were selected for this study: vanillic acid, 4-hydroxybenzoic acid, protocatechuic acid, gallic acid were benzoic derivatives while p-coumaric acid, ferulic acid, syringic acid, caffeic acid were cinnamic derivatives. A reversed-phase packed capillary HPLC column was employed for separating the analytes at 1 $\mu\text{L}/\text{min}$ using a mixture of water and acetonitrile in gradient conditions. Detection limits, ranging between 0.3 and 5 ng, were reduced by a factor of 5 respect to those produced by a conventional interface. Gallic acid, normally undetected, gave a rather good signal (5 ng) under capillary-scale conditions. This method was used to evaluate the influence of different aging processes on the phenolic acid content in some red wines.

CARATTERIZZAZIONE DELLA RIDUZIONE DEL $\text{Br}_2\text{Co}(\text{DO})(\text{DOH})_{\text{pn}}$ CON METODI SPETTROELETTROCHIMICI

Marco Giorgetti^{1,2}, Mario Berrettoni³, Isabella Ascone², Silvia Zamponi¹, Paolo Conti¹, Roberto Marassi¹

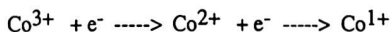
1 Dipartimento di Scienze Chimiche, via S. Agostino 1, 62032 CAMERINO (MC) - ITALIA

2 LURE Bât 209 D, Université de Paris-Sud, 91405 ORSAY - FRANCE

3 Dipartimento di Matematica e Fisica, UdR INFN, via Madonna delle Carceri, 62032 CAMERINO (MC) - ITALIA

Lo studio dei bassi stati di ossidazione del Cobalto è di fondamentale importanza per la comprensione del ruolo biologico della vitamina B12¹ e dei suoi derivati². Tra i composti modelli della vitamina B12 i composti del tipo "Costa type" sono quelle che presentano un comportamento elettrochimico simile a quello della vitamina nativa^{3,4}. In questo lavoro sono presentati i risultati dello studio del processo di riduzione del $\text{Br}_2\text{Co}(\text{DO})(\text{DOH})_{\text{pn}}$

che è il composto di partenza per la sintesi dei "Costa type". La riduzione del cobalto dallo stato di ossidazione tre a uno è un processo a due stadi monoeltronici



Il processo di riduzione è stato studiato mediante spettroelettrochimica XAS registrando gli spettri di assorbimento X ai potenziali corrispondenti alle tre specie^{5,6}

L'analisi EXAFS ha permesso di evidenziare la perdita di entrambi gli atomi di bromo nel primo processo di riduzione. Questo ci permette di ipotizzare il seguente cammino ossidoriduttivo



Misure elettrochimiche confermano il precedente meccanismo.

- 1) Dolphin, D.; B12; Ed.; Wiley-Interscience: New York, 1982; Vols. I and II.
- 2) Halpern, J. *Science* **1985**, *227*, 869.
- 3) Seeber, R.; Marassi, R.; Parker, W.O.; Kelly, G. *Inorg. Chim. Acta* **1990**, *168*, 127, and references therein.
- 4) Seeber, R.; Marassi, R.; Parker Jr, W.O.; Marzilli, G.L. *Organometallics* **1988**, *6*, 1672.
- 5) Giorgetti, M.; Berrettoni, M.; Conti, P.; Di Cicco, A.; Marassi, R.; Ascone, I. *Organometallics* **1996**, *15*, 3491.

IDROCARBURI CLORURATI VOLATILI IN NEVE DI AREE REMOTE. DETERMINAZIONE A LIVELLO DI ng/Kg MEDIANTE PTI-GC-MS

L. Zoccolillo, L. Amendola, D. Mencarelli, A. Sbrilli

Dipartimento di Chimica, Università di Roma "La Sapienza",
P.le Aldo Moro, 5 - 00185 Roma; E-mail: zoccolillo@uniroma1.it

Questo lavoro si inserisce in una ricerca che gli Autori portano avanti da alcuni anni e che riguarda la presenza in aree remote come l'Antartide di alcuni idrocarburi clorurati volatili quali tetraclorometano, tricloroetilene e tetracloroetilene. Queste sostanze, a causa della loro massiccia immissione nell'ambiente e per le loro caratteristiche chimico-fisiche, possono essere possibili contaminanti a livello planetario e quindi, oltre che responsabili di eventuali effetti ecotossici, possono essere indicatori di modificazioni globali dell'ambiente.

In precedenti lavori le suddette sostanze sono state rinvenute nell'ambiente acquatico¹⁻⁵ (acque di diversa provenienza e tipologia, nevi di aree antropizzate e di aree remote) in concentrazioni fino a qualche decina di ng/Kg in aree remote e fino ad alcune centinaia di ng/Kg in aree fortemente antropizzate. Le stesse sostanze sono state rinvenute in aree remote anche in atmosfera⁶.

La metodologia analitica impiegata dagli Autori in precedenti lavori^{4,5} prevede una estrazione, normalmente in esano, con un rapporto esano/acqua in volume di 1/1000. Il rapporto esano/acqua 1/1000 permette di ottenere in fase organica un arricchimento delle sostanze di interesse di circa 1.000 volte (dai ng/Kg in acqua ai $\mu\text{g/Kg}$ in esano, questi ultimi facilmente analizzabili mediante GC-ECD). Detta metodologia non è applicabile a quantità di acqua inferiori a 0,5 Kg per la difficoltà di recupero della fase organica dopo l'estrazione.

Nel presente lavoro si riporta la messa a punto di una nuova metodologia in grado di determinare, direttamente nell'acqua, le sostanze di cui sopra fino a 0,5 ng/Kg, operando su volumi molto ridotti di campione (5-15 ml di acqua). Questa metodologia risulta molto utile per l'analisi di nevi provenienti da aree remote, come le zone interne dell'Antartide, dove prelievo e trasporto dei campioni vengono eseguiti in condizioni molto critiche. I campioni di neve sono analizzati dopo fusione della matrice. La nuova metodologia prevede la combinazione "on line" della estrazione con l'analisi, realizzata mediante un sistema "Purge and Trap-GC-MS". L'identificazione delle specie chimiche di interesse è effettuata mediante combinazione di parametri qualitativi, quali il tempo di ritenzione cromatografico ed il rapporto tra le abbondanze relative a due frammenti (m/z) specifici di ciascuna specie. In figura 1 sono riportate le rette di calibrazione relative ai tre composti oggetto di studio, nel campo di concentrazione di maggior interesse per l'ambiente acquatico.

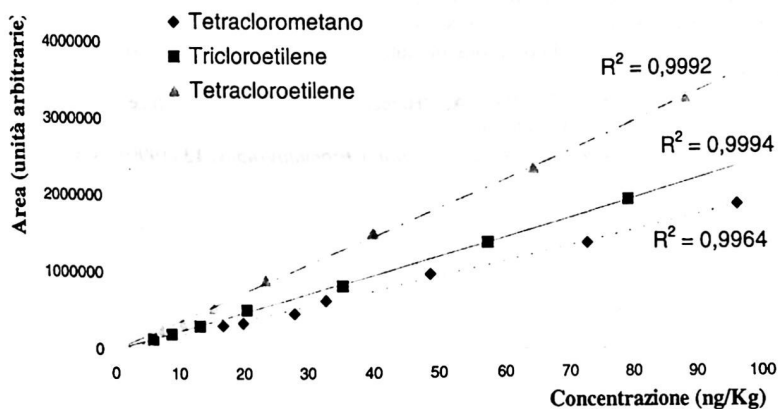


Figura 1: Calibrazione del sistema PTI-GC-MS SIM per l'analisi di tetraclorometano, tricloroetilene e tetracloroetilene in campioni di acqua o neve fusa.

In figura 2 è mostrato un tipico cromatogramma PTI-GC-MS SIM relativo ad un campione di neve superficiale prelevato in Antartide sul ghiacciaio Rennick, durante la XII campagna italiana in Antartide (1996-1997).

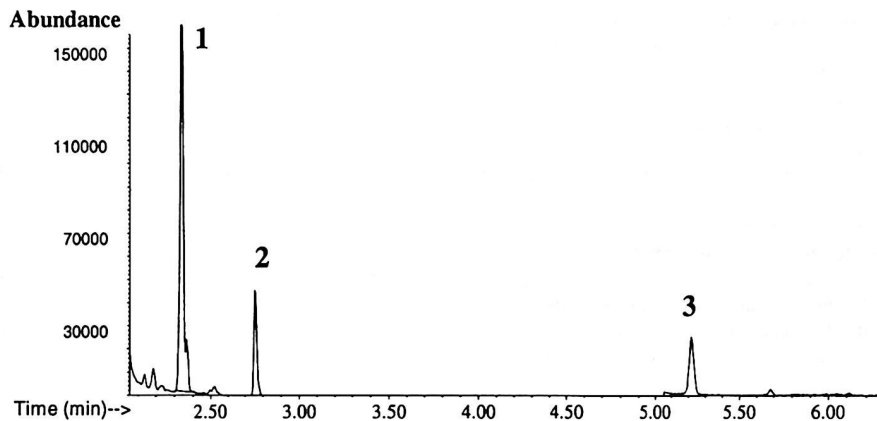


Figura 2: Tipico cromatogramma PTI-GC-MS SIM di idrocarburi clorurati in neve superficiale dell'Antartide. 1) tetraclorometano, 19ng/Kg; 2) tricloroetilene, 5ng/Kg; 3) tetracloroetilene, 2ng/Kg.

Questo lavoro è stato eseguito nell'ambito del Progetto Nazionale di Ricerca in Antartide sulla Contaminazione Ambientale.

- 1) Hajimiragha H., Ewers U., Jansen-Rossek R., and Brockhaus A. "Human exposure to volatile halogenated hydrocarbons from the general environment" *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **58** (1986) 141-50.
- 2) Yamasaki T., Oki N., Okuno T., *Water Science Technology*, **11** (1992) 33-39.
- 3) Mackay D., Paterson S., *Environmental Science and Technology*, **25** (1991) 427-436.
- 4) Zoccolillo L., Rellori M., "Halocarbons in Antarctic Surface Waters", *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **55** (1994) 27-32.
- 5) Zoccolillo L., Amendola L., Tarallo G.A., "Halocarbons in Antarctic Surface Waters and Snow", *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **63** (1996) 91-98.
- 6) Muller S., Oehme M., *Journal of High Resolution Chromatography*, **13** (1990) 34-39.

MIGLIORAMENTO DELLA STABILITÀ DI FILM INORGANICI ELETTROSINTETIZZATI MEDIANTE CONDIZIONAMENTO ELETTROCHIMICO IN RUTENIO(III)

Tommaso R. I. Cataldi, *Giuseppe E. De Benedetto*

Dipartimento di Chimica, Università degli Studi della Basilicata, Potenza

Negli ultimi due decenni un notevole interesse è stato rivolto alla preparazione e alla caratterizzazione di esaciano derivati di metalli di transizione (e più recentemente anche di metalli non di transizione) a causa delle loro caratteristiche elettrochimiche e spettroscopiche. Questi sistemi di formula generale $M^I_A[M^{II}(\text{CN})_6]_B$ hanno proprietà simili a quelle dei polimeri organici redox e dei materiali zeolitici. Lo studio dei film inorganici è guidato sia dall'interesse negli aspetti basilari dell'elettrochimica che dalla possibilità di utilizzarli in settori tecnologicamente importanti [1,2]. Ad esempio l'indio(III)-esacianoferrato(II/III) (InHCF) è un analogo del Blu di Prussia (PB) molto interessante per la sua applicazione in dispositivi elettrocromici [2] ed elettrocatalitici [3,4], per la conversione di energia fotoelettrochimica [5] e come strato protettivo per fotoelettrodi [6].

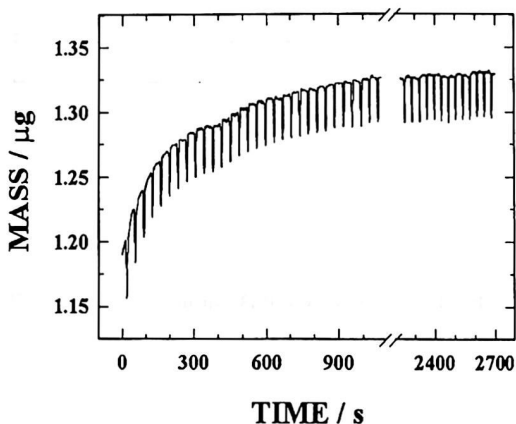


Figura 1. Variazione della massa per un film di InHCF su platino (EQCM) ottenuta durante una serie ripetuta di scansioni di potenziale fra 0.0 e +0.9 V in RuCl_3 .

Purtroppo l'impiego di tale film è fortemente limitato per effetto del considerevole deterioramento dell'attività elettrochimica dovuta a dissoluzione del film. È stata individuata una nuova procedura che permette di ottenere film inorganici estremamente stabili grazie all'incorporazione di specie ossido del rutenio ($-\text{Ru}-\text{O}$) [7,8].

In questa nota saranno riportate le modificazioni subite dal film di InHCF in seguito a condizionamento in una soluzione di Ru(III), utilizzando un approccio simile a quello impiegato per un elettrodo modificato a base di rutenio porpora (RP) [7]. La voltammetria ciclica e la microgravimetria (Figura 1) con la microbilancia a cristallo di quarzo (EQCM) sono state utilizzate simultaneamente per seguire il processo elettrochimico di stabilizzazione. Il risultante film di InHCF modificato con rutenio tricloruro (Ru-InHCF, vedi Figura 2) è stato caratterizzato mediante voltammetria ciclica e spettroscopia fotoelettronica a raggi X (XPS). Il miglioramento della stabilità osservato nel sistema Ru-InHCF sembra essere dovuto alla formazione di robuste specie dinucleari del tipo $\text{NC}-\text{Fe}-\text{O}-\text{Ru}$ e $\text{NC}-\text{Fe}-\text{CN}-\text{Ru}-\text{O}$, come rilevato dall'indagine spettroscopica. Il Ru-InHCF mostra una notevole stabilità elettrochimica: dopo 10^4 cicli tra 0.0 V e +0.9 V vs. Ag/AgCl il comportamento voltammetrico non risulta assolutamente modificato.

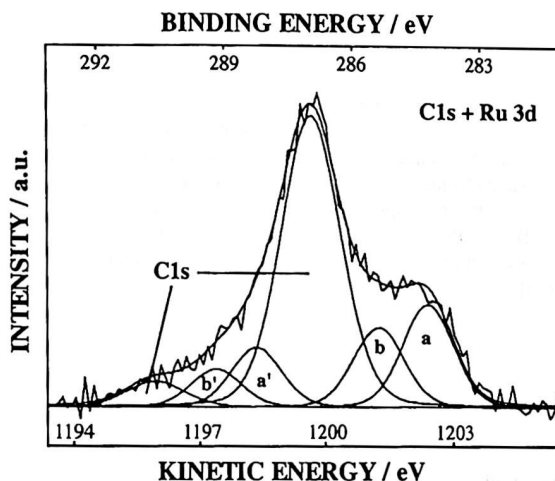


Figura 2. Spettro XP della regione C1s + Ru3d di un film di Ru-InHCF su platino. Scala delle energie di legame non corretta per il caricamento.

È interessante, infine, come il film Ru-InHCF esibisca una alta attività catalitica per l'ossidazione di diversi composti organici ed inorganici di interesse analitico, come As(III), $S_2O_3^{2-}$, cisteina, etc. La robustezza di questo film lo rende buon candidato in differenti aree tecnologicamente rilevanti per applicazioni in dispositivi sia elettrochimici sia a stato-solido.

- 1) K. Itaya, I. Uchida, V.D. Neff, *Acc. Chem. Res.* **19** (1986) 162.
- 2) P.M.S. Monk, R.J. Mortimer and D.R. Rosseinsky, *Electrochromism: Fundamentals and Applications*, VCH, Weinheim, 1995, Capitolo 6.
- 3) H. Li, E. Wang, *Microchem. J.* **49** (1994) 91.
- 4) S.-M. Chen, *J. Electroanal. Chem.* **417** (1996) 145.
- 5) H. Gomathi, D.N. Upadhyay, G. Prabhakara Rao, *Solar Energy Mater.* **30** (1993) 161.
- 6) T. Gruszecki, B. Holmström, *J. Appl. Electrochem.*, **21** (1991) 430.
- 7) T.R.I. Cataldi, G.E. De Benedetto, C. Campa, *J. Electroanal. Chem.*, **437** (1997) 93.
- 8) T.R.I. Cataldi, G.E. De Benedetto, A. Bianchini, *J. Electroanal. Chem.*, (1998) in stampa.

SVILUPPO HARDWARE E SOFTWARE DI UN TITOLATORE COMPUTERIZZATO A BASSO COSTO PER MISURE AUTOMATIZZATE DELLO IONE CLORURO IN MATERIALI AVANZATI E REAZIONI CATALITICHE

Carlo DOSSI, Sandro RECCHIA, Andrea POZZI[#], Achille FUSI e Matteo GUIDOTTI

Università di Milano,

Dipartimento di Chimica Inorganica, Metallorganica e Analitica, Via Venezian, 21 MILANO e

[#]Istituto di Scienze Matematiche, Fisiche e Chimiche, Via Lucini 3, COMO

e-mail : dossic@csmbo.mi.cnr.it

In questa comunicazione si intende presentare e discutere lo sviluppo sia a livello hardware che software di un titolatore computerizzato per analisi potenziometriche utilizzando strumentazioni commerciali da laboratorio a basso costo, un pHmetro/millivoltmetro AMEL 338 (AMEL srl, Milano) abbinato ad un elettrodo combinato ad Ag, e una buretta digitale CAT Liquidprocessor (Ingenieurbüro M.Zipperer GmbH, Germany).

I due strumenti sono state interfacciati ad un personal computer IBM-compatibile mediante interfacce seriali RS-232, e sono gestiti mediante un programma software scritto in QuickBasic v4.5 (Microsoft Corp., USA) che permette la definizione di tutti i parametri operativi: la scelta mV/pH, il volume e la velocità di aggiunta del titolante ed l'intervallo fra le aggiunte. Il programma permette inoltre di modificare questi ultimi tre parametri in funzione del valore del rapporto incrementale $d(mV)/d(mL)$, in modo da seguire fedelmente la curva di titolazione in corrispondenza dei punti ad elevata pendenza intorno al punto finale della titolazione. I dati vengono registrati su disco in formato ASCII, e successivamente elaborati mediante un foglio elettronico (QuattroPro, Corel Corp. USA), per determinare automaticamente il volume di equivalenza mediante il metodo di Gran [1].

Questa strumentazione è stata utilizzata per la determinazione di routine del contenuto in cloro di catalizzatori eterogenei per reazioni di idrodeclorazione di solventi clorurati quali CCl_4 . Un tipico esempio è mostrato in figura 1.

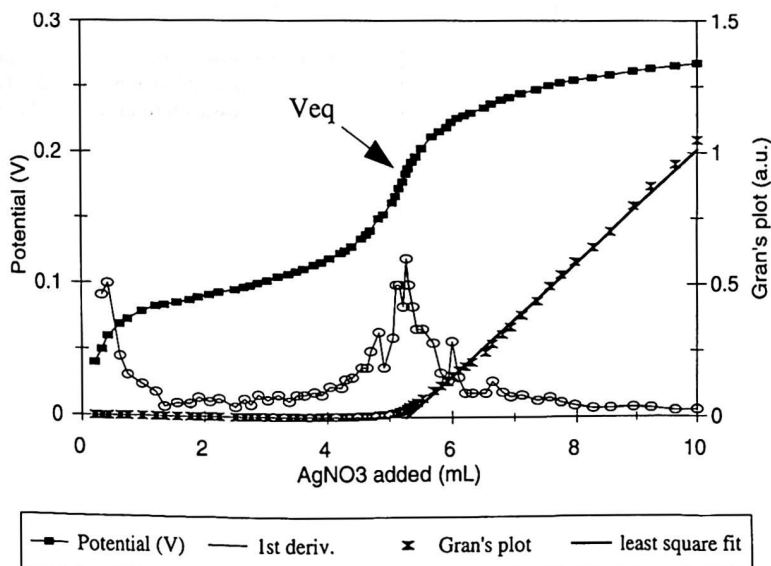


Figura 1 Titolazione dello ione cloruro e determinazione del volume di equivalenza con il metodo di Gran di un catalizzatore Pd/MgO per la idrodeclorazione di CCl_4 .

Il titolatore è stato inoltre collegato ad un reattore di catalisi per la determinazione quantitativa in continuo dell'evoluzione di HCl durante la reazione di idrodeclorurazione di CCl_4 a CHCl_3 e metano. In questa configurazione, la cella potenziometrica è stata sistemata all'uscita del reattore catalitico, mentre alla porta seriale del PC si è collegato il sensore di temperatura del reattore, al posto della buretta digitale.

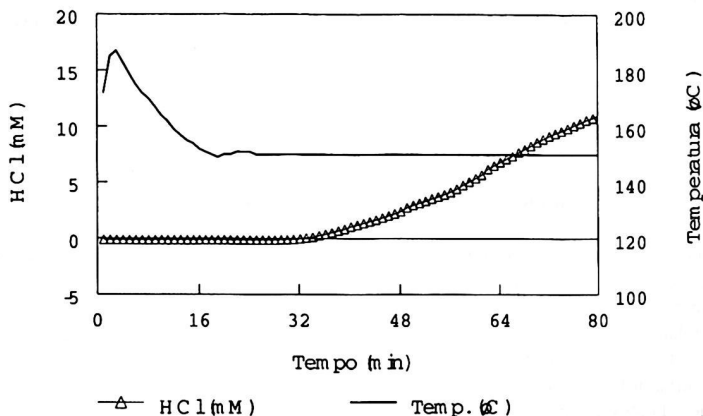


Figura 2. Analisi automatica in continuo dell'evoluzione di HCl da un reattore catalitico per la reazione di idrodeclorurazione di CCl_4 .

Si può immediatamente notare dalla Figura 2 come il sistema analitico permetta di correlare la formazione di HCl alla temperatura del letto catalitico, e di valutare in continuo l'attività del catalizzatore.

L'utilizzo combinato nelle due configurazioni proposte ci ha poi permesso di ipotizzare che l'aumento iniziale della temperatura e l'assenza di evoluzione di HCl siano da imputarsi all'assorbimento dell'HCl da parte dell'ossido di magnesio di supporto, con formazione di una specie ossicloruro di formula $\text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot 5\text{MgO} \cdot \text{MgCl}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$

- 1) G.Gran, *Analyst*, 77, 661 (1952).

ASSORBIMENTO ATOMICO DEL LITIO IN CELLETTA DI GRAFITE UTILIZZANDO UN LASER A SEMICONDUETTORE COME SORGENTE DI LUCE.

P. Benetti, S. DeGregori

Dipartimento di Chimica Generale dell'Università di Pavia

Si può dire che la grande diffusione della tecnica di assorbimento atomico in chimica analitica è avvenuta con l'impiego delle sorgenti a catodo cavo; altrimenti, utilizzando una sorgente spettralmente continua, occorre impiegare costosi sistemi ottici ad elevato potere risolutivo. Quest'ultima soluzione, tuttavia, è spettroscopicamente più corretta, perché non comporta compromessi tra i profili spettrali di emissione (della sorgente) e di assorbimento (dell'analita).

Proprio in questo contesto tecnico scientifico si sta attualmente inserendo una interessante alternativa: l'impiego, come sorgente di luce, di diodi laser a semiconduttore.

In questo lavoro verranno innanzitutto presentate le caratteristiche strumentali cui devono soddisfare tali laser per l'impiego in AAS. Seguirà un esame dei benefici cui il loro utilizzo può dar luogo. Fra questi, un aumento del rapporto Segnale/ Rumore fotonico (S/N), che si traduce nella pratica possibilità di misurare assorbanze $< 10^{-4}$ (in particolari condizioni, questo limite è stato migliorato di ordini di grandezza).

Sotto adeguati parametri operativi, i diodi laser emettono con banda ottica inferiore alla larghezza della transizione di assorbimento atomico. Presentano anche una variazione di lunghezza d'onda in funzione della corrente di alimentazione, con rapidi tempi di risposta. Pertanto è consentito lavorare in modulazione di lunghezza d'onda anche ad elevate frequenze di modulazione. In questo modo si ottengono diversi vantaggi. In genere si migliora, per es., la sensibilità della tecnica perché si ottimizza la effettiva sovrapposizione spettrale emissione - assorbimento. Il concomitante aumento del rapporto S/N e della sensibilità porta ad un miglioramento del limite di rivelabilità.

Operando poi in seconda armonica, si può ottenere la correzione del fondo.

Tra gli svantaggi dell'impiego dei laser a semiconduttore, sono da ricordare la disponibilità - per ora - di sorgenti davvero economiche solo per $\lambda > 630$ nm e la necessità di una accurata mappatura delle relazioni tra la lunghezza d'onda di emissione, la corrente di alimentazione e la temperatura di funzionamento.

Infine saranno presentati l'assetto sperimentale utilizzato ed i risultati ottenuti nella determinazione del litio, con abbondanza isotopica naturale, a 670,8 nm, atomizzando in celletta di grafite.

ANALISI D'IMMAGINE CON RIVELAZIONE CHEMILUMINESCENTE COME STRUMENTO ANALITICO PER LO STUDIO DI REAZIONI BIOSPECIFICHE

¹Patrizia Pasini, ²Monica Musiani, ³Mario Baraldini, ⁴Giorgio Aicardi, ¹Manuela Lotierzo, ¹Carmela Russo, ¹Massimo Guardigli e ⁴Aldo Roda

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, ²Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, ³Istituto di Scienze Chimiche e ⁴Dipartimento di Fisiologia, Università di Bologna, Bologna

L'analisi d'immagine con rivelazione chemiluminescente (CL) rappresenta un potente strumento analitico per la determinazione quantitativa e la localizzazione di biomolecole in matrici biologiche e superfici in genere. La chemiluminescenza è stata largamente impiegata in diverse tecniche analitiche grazie alla elevata sensibilità, alla rapidità di risposta e alla possibilità di misurare direttamente il segnale. Al fine di ottenere informazioni quantitative è necessario ottimizzare una serie di parametri analitici. Nel presente lavoro è stato sviluppato un sistema per l'analisi quantitativa ultrasensibile e la visualizzazione della distribuzione spaziale di biomolecole quali enzimi, antigeni, sonde cDNA in tessuti o singole cellule e per l'ottimizzazione della immobilizzazione di proteine su elettrodi d'oro depositati su cristalli di quarzo. Il sistema consiste in una videocamera di tipo Vidicon o CCD, collegabile ad un microscopio ottico, in grado di misurare l'emissione luminosa a livello di singoli fotoni e gestita da un software per l'elaborazione delle immagini digitali ottenute. E' possibile studiare enzimi o sonde biospecifiche marcate con enzimi mediante substrati enzimatici CL, oppure reazioni enzimatiche accoppiate che portano alla produzione finale di fotoni.

Allo scopo di ottimizzare le condizioni sperimentali che permettono di quantificare e localizzare il segnale analitico in modo preciso e accurato, sono stati utilizzati dei sistemi modello in cui enzimi come la perossidasi (HRP) e l'acetilcolinesterasi (AChE) sono stati immobilizzati chimicamente su sfere acriliche funzionalizzate (particelle macroporose di diametro 250 μm) e cristalli di quarzo rivestiti d'oro per bilance piezoelettriche. L'HRP immobilizzata ha consentito di valutare l'intensità dell'emissione luminosa, il rapporto segnale/fondo e la risoluzione spaziale in funzione di tre diversi substrati CL (ECL, Amersham; Lumigen PS-3, Lumigen; SuperSignal Ultra, Pierce). L'AChE immobilizzata ha permesso invece di definire l'effetto della composizione del cocktail CL quando l'enzima primario viene determinato mediante due enzimi accoppiati in soluzione, la colina ossidasi e la perossidasi, e un substrato CL.

I tre substrati CL per l'HRP hanno mostrato una cinetica di tipo steady-state. Il rapporto segnale/fondo è risultato simile per ECL e SuperSignal Ultra e migliore rispetto a Lumigen PS-3; inoltre, i primi due substrati hanno permesso di localizzare accuratamente l'enzima, mentre il terzo ha prodotto un segnale diffuso nella soluzione circostante anziché localizzato sulla superficie bersaglio. ECL e SuperSignal Ultra contengono luminolo/H₂O₂ ed amplificatori del segnale come sistema CL e probabilmente l'emivita delle specie eccitate è molto breve, rendendo trascurabile la diffusione di tali specie nel mezzo di reazione. Lumigen PS-3 è invece basato su esteri acridancarbossilato/H₂O₂ e le specie eccitate hanno evidentemente emivita lunga, per cui diffondono in soluzione e decadono allo stato fondamentale lontano dai siti attivi enzimatici. Risultati simili, in termini di intensità di segnale e risoluzione spaziale, sono stati ottenuti su campioni biologici: è stato possibile localizzare antigeni virali di herpes simplex e genomi virali di citomegalovirus in fibroblasti infettati mediante, rispettivamente, anticorpi marcati con HRP in reazioni immunocitochimiche e sonde cDNA marcate con HRP in reazioni di ibridizzazione in situ. L'analisi dell'immagine chemiluminescente dell'HRP immobilizzata su cristalli di quarzo ha permesso di ottimizzare le condizioni di reazione per la realizzazione di biosensori. Per quanto riguarda l'AChE immobilizzata su sfere acriliche, la concentrazione degli enzimi e dei substrati componenti il cocktail CL è stata ottimizzata per ottenere un segnale sufficientemente intenso e, nello stesso tempo, con una cinetica di tipo steady-state per facilitare le operazioni di misura. Inoltre, le attività relative dei due enzimi in soluzione rispetto all'enzima primario immobilizzato sono state ottimizzate per evitare che il prodotto dell'enzima primario da localizzare diffondesse nella soluzione prima di fungere da substrato per il secondo enzima, con conseguente produzione finale di fotoni diffusa anziché localizzata in corrispondenza dei siti attivi. Studi preliminari su campioni biologici hanno permesso di localizzare l'AChE in neuroni colinergici in sezioni di cervello di ratto.

In conclusione, i requisiti essenziali per l'utilizzo di tecniche di analisi d'immagine quantitativa con rivelazione chemiluminescente, per lo studio a livello sub-molare (10^{-15} - 10^{-18} mol) di enzimi e sonde

biospecifiche marcate con enzimi, sono i seguenti: la reazione CL deve avere una cinetica di tipo steady-state, il decadimento delle specie eccitate deve avvenire in corrispondenza dei siti attivi e l'intensità dell'emissione luminosa deve essere proporzionale all'attività enzimatica.

SVILUPPO DI UN METODO CHEMILUMINESCENTE PER LA DETERMINAZIONE DELL'ATTIVITA' ENZIMATICA DELL'UREASI: UTILIZZO PER LA DIAGNOSI PRECOCE DELL'INFEZIONE DA *HELICOBACTER PYLORI* NELLA MUCOSA GASTRICA

¹Patrizia Pasini, ¹Francesco Piazza, ²Mario Baraldini, ¹Laura Zambonin, ³Stefania Fossi, ³Franco Bazzoli, ³Enrico Roda e ¹Aldo Roda

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, ²Istituto di Scienze Chimiche e ³Dipartimento di Medicina Interna e Gastroenterologia, Università di Bologna, Bologna

L'infezione da *Helicobacter pylori*, largamente diffusa in molti paesi, costituisce una delle cause principali di gastrite cronica ed ulcera peptica e rappresenta un fattore di rischio per l'insorgenza di cancro gastrico. La diagnosi precoce è estremamente importante al fine di intervenire prontamente con una terapia eradicante a base di antibiotici ed antisecretori.

Uno dei metodi diagnostici disponibili è il test rapido all'ureasi, basato sul fatto che *H. pylori* produce quantità elevate di questo enzima che, in presenza di urea, catalizza l'idrolisi del substrato per formare NH₃ e CO₂, con conseguente aumento del pH della soluzione e cambiamento di colore di un indicatore colorimetrico di pH. Diversi test all'ureasi basati su indicatori colorimetrici, come ad esempio il rosso fenolo, sono attualmente disponibili in commercio e vengono usati comunemente per la diagnosi rapida dell'infezione da *H. pylori* in campioni biotici di mucosa gastrica. Tali test colorimetrici, però, sono spesso poco sensibili e danno risultati falsi-negativi quando si utilizza il tempo di incubazione consigliato di 30 minuti. D'altra parte, tempi di incubazione più lunghi potrebbero dare risultati falsi-positivi, dovuti a batteri diversi contenenti ureasi a concentrazione ed attività inferiori rispetto ad *H. pylori*.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di sviluppare ed ottimizzare un metodo per la determinazione dell'attività enzimatica dell'ureasi basato sull'uso di un indicatore chemiluminescente (CL) di pH, il ftalidrazidilazoacetilacetone. Questo composto è stabile in ambiente acido, si decompone a valori di pH ≥ 7 e, in presenza di H₂O₂, emette fotoni. L'aggiunta di un agente ossidante quale K₃Fe(CN)₆ aumenta l'intensità dell'emissione luminosa, consentendo di abbassare il limite di rivelazione ed aumentare la sensibilità del test. Il segnale analitico può essere rivelato con un luminometro basato su un tubo fotomoltiplicatore o un semplice fotodiodo, oppure con una pellicola fotografica a sviluppo istantaneo. In eccesso di urea, la luce emessa è proporzionale all'attività dell'ureasi permettendo così di effettuare un'analisi quantitativa.

Il cocktail chemiluminescente è costituito da una soluzione acquosa contenente urea 11 mM, H₂O₂ 0.13% v/v, K₃Fe(CN)₆ 3 mM, ftalidrazidilazoacetilacetone 16 µg/ml. Il metodo è stato inizialmente ottimizzato su soluzioni a concentrazione nota di ureasi ed è stato in grado di misurare 6×10^{-3} U di enzima dopo 1 minuto di incubazione, contro le 300×10^{-3} U misurate con il rosso fenolo dopo 30 minuti. Confrontando le pendenze delle curve di calibrazione ottenute con il metodo colorimetrico ($y = 0.09x + 1.32$) e quello chemiluminescente ($y = 0.15x + 3.46$), quest'ultimo è risultato più sensibile. Il coefficiente di variazione calcolato su sei esperimenti è stato inferiore al 5%, dimostrando che il metodo sviluppato è sufficientemente preciso.

Il test CL è stato poi eseguito su 25 frammenti biotici di mucosa gastrica, semplicemente ponendo i campioni nella soluzione del cocktail chemiluminescente e misurando il segnale dopo 1 minuto di incubazione. I risultati sono stati confrontati con quelli del test colorimetrico e dell'esame istologico, normalmente assunto come test diagnostico di riferimento: il test CL dopo 1 minuto di incubazione era più sensibile del test colorimetrico dopo 30 minuti di incubazione, ma meno sensibile dell'istologia; dopo 10 minuti di incubazione il test CL si è rivelato sensibile quanto l'esame istologico.

In conclusione, il metodo chemiluminescente sviluppato è risultato estremamente semplice ed almeno 50 volte più sensibile di quelli colorimetrici, permettendo la diagnosi precoce dell'infezione da *H. pylori*; è più rapido in quanto fornisce risultati in 1-10 minuti rispetto ai 30 minuti necessari per i metodi colorimetrici; infine, la maggiore rapidità garantisce anche una maggiore specificità.

Ulteriori applicazioni di questo metodo CL potrebbero essere la localizzazione *in situ* dell'attività ureasica, corrispondente alla presenza di *H. pylori*, in criosezioni di mucosa gastrica e lo sviluppo di test ad alta produttività per lo screening di farmaci antimicrobici in grado di inattivare il batterio.

OTTIMIZZAZIONE DELL'ESTRAZIONE DI TENSOATTIVI CATIONICI DAI SEDIMENTI MARINI E LORO DETERMINAZIONE SPETTROFOTOMETRICA CON IL METODO AL METIL ARANCIO.

M. Mecozzi, E. Pietrantonio e M. Amici.

Istituto Centrale per la Ricerca Scientifica e Tecnologica Applicata al Mare
Via di Casalotti 300, 00166 Roma.

I tensioattivi cationici (TC) sono sversati nell'ambiente a causa del loro impiego industriale, domestico e cosmetico, accumulandosi così in terreni e sedimenti. Pertanto la loro determinazione in questi tipi di campioni costituisce un utile parametro per definirne la qualità ambientale. Tuttavia l'estrazione di TC dai sedimenti è un passaggio generalmente laborioso in quanto la letteratura riporta cicli di estrazioni con metanolo a caldo; una valida alternativa a questi metodi è costituita dall'estrazione in fase supercritica.

In questo lavoro noi descriviamo un metodo per l'estrazione e l'analisi di TC da sedimenti marini. L'estrazione consiste in un unico trattamento con metanolo a temperatura ambiente in un semplice agitatore automatico. La rapidità (10 minuti) ed i recuperi quantitativi dai sedimenti ($> 80\%$) sono dovuti alla ottimizzazione delle condizioni sperimentali effettuata mediante la tecnica chemiometrica Central Composite Experimental Design [1-3].

La successiva determinazione colorimetrica dei tensioattivi cationici è stata realizzata con il metodo al Metil Arancio previa una purificazione su resina a scambio anionico che elimina tutte le interferenze dovute alla presenza contemporanea di altri anioni (inquinanti e naturali) presenti nel campione.

Il metodo proposto consente una estrazione quantitativa ed in tempi brevi dei tensioattivi cationici dai sedimenti marini con una procedura semplice e rapida che non necessita di strumentazione costosa. I recuperi sono compresi tra 82-105% ed il limite di rilevabilità della tecnica descritta è pari a 0.8 mg Kg^{-1} .

- 1) P.W. Araujo, R.G. Brereton, *Trends Anal. Chem.*, **15**, 63-70, 1996
- 2) I.J. Barnabas, J.R. Dean, I.A. Fowles, S.P. Owen, *Analyst*, **120**, 1897-1904, 1995
- 3) J. Palasota, S.N. Deming, *Jour. Chem. Educ.*, **69**, 560-563, 1992

BONIFICA DI UN SITO CONTAMINATO (ESPERIENZA DI UN LABORATORIO CHIMICO SU CAMPO)

Ernesto Gallucci, Paola Marziali

Chemicontrol S.r.l. Via Rosselli, 81 - 63017 Porto San Giorgio (AP)

PRESENTAZIONE DEL LABORATORIO

Il laboratorio **Chemicontrol S.r.l.** di Porto San Giorgio in collaborazione con la Ditta **Ausilio** di Imola ha allestito un'unità esterna di controllo chimico nel cantiere ex-Acna di Cesano Maderno che sta effettuando un'opera di bonifica del territorio contaminato dall'Acna, una ditta produttrice di coloranti.

L'inquinamento provocato dall'Azienda può essere considerato un vero e proprio "disastro" ambientale in quanto si possono osservare vasche di fanghi a cielo aperto e trovare rifiuti di coloranti, stoccati in semplici sacchetti di plastica, ad un solo metro di profondità.

La movimentazione di tali rifiuti, fanghi e noccioli, ha richiesto un monitoraggio continuo della qualità dell'aria e degli ambienti di lavoro, per garantire agli operatori ed agli abitanti del paese di Cesano Maderno le dovute sicurezze.

Per assicurare risposte tempestive ed al passo con i lavori, è stato richiesto che i risultati fossero consegnati nell'arco di 48 ore; infatti solo in questo modo è possibile valutare in tempo reale le concentrazioni delle sostanze pericolose e qualora queste superassero i limiti previsti dalle normative vigenti, adottare i dispositivi di protezione adeguati.

A questo fine è stata allestita l'unità Esterna Chemicontrol nel cantiere ex-Acna di Cesano Maderno.

Essa è fornita delle seguenti strumentazioni:

- AAS PERKIN ELEMER 1100 B, HGA-700, SAMPLER
- MINERALIZZATORE STAR SYSTEM 2 CEM CORPORATION
- DISTILLATORE AUTOMATICO A 4000 BIBBY-AQUATRON
- PIASTRA ELETTRICA HB 500 BIBBY
- GENERATORE DI ARIA PURA AIRSILENT
- STUFA DI ESSICCAMENTO BICASA
- BILANCIA OHAUS BIBBY

L'organizzazione di una tale strumentazione in un così piccolo spazio (~ 12 m²) ha richiesto un'ottima capacità logistica e un notevole impegno per rendere il più possibile minori gli sprechi di spazio, migliorando così le condizioni operative dell'analista.

Nell'arco di soli 15 giorni l'unità Esterna è stata resa pienamente operativa e si sono ottenuti tempi di risposta addirittura inferiori a quelli previsti. Inoltre per garantire alla Committente (Enichem) l'attendibilità dei risultati sono stati effettuati dei controlli incrociati con il Multizonale di Macerata e con la sede del Laboratorio Chemicontrol di Porto San Giorgio, ottenendo conferme molto soddisfacenti.

CAMPIONAMENTI

I campionamenti per il monitoraggio quotidiano dell'aria nel cantiere ex-ACNA possono essere suddivisi in due categorie:

Campionamenti sul territorio – per valutare la qualità dell'aria nel perimetro circostante il cantiere -.

Campionamenti sugli operatori – per valutare l'esposizione in ambiente di lavoro - .

Per capire meglio come sono strutturati questi due tipi di rilievi, bisognerebbe considerare attentamente gli schemi di campionamento che non riportiamo per esigenze di spazio.

Possiamo dire che:

- La posizione della postazione varia in dipendenza delle zone in cui si opera.
- Nei risultati finali viene dato il valore medio delle polveri totali, tenendo conto del tempo di esposizione nella giornata.

DESCRIZIONE DEI TIPI DI CAMPIONAMENTO

Le analisi effettuate dall'unità mobile sono:

- Determinazione delle polveri totali
- Determinazione della frazione respirabile
- Determinazione dei metalli pesanti (As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Zn) sulle polveri totali e sulla frazione respirabile.

La determinazione delle polveri totali e della frazione respirabile viene eseguita per differenza di peso secondo i metodi UNI-CHIM, 271/DPCM e 316/DPCM del 28/03/88 rispettivamente.

I metalli pesanti sono determinati sulle membrane, dopo attacco acido in ambiente controllato, in Assorbimento Atomico con tecnica al fornetto di grafite e con il metodo degli idruri seguendo le metodiche OSHA ID 121, utilizzando uno Spettrofotometro in Assorbimento Atomico Perkin Elmer 1100 B, HGA-700, Sampler.

Il campionamento viene eseguito da tecnici Ausilio S.r.l. secondo i metodi UNI-CHIM 271/DPCM e 316/DPCM.

MODALITA' OPERATIVE

Le modalità operative del laboratorio esterno Chemicontrol S.r.l. possono essere descritte nel seguente modo:

- 1) Registrazione dei filtri utilizzati nel campionamento. I filtri vengono inizialmente essiccati, pesati e registrati con un particolare codice in un registro interno e consegnati all'operatore addetto al campionamento.
- 2) Consegna dei filtri dopo il campionamento. I filtri, dopo il campionamento, pervengono al laboratorio accompagnati da un foglio di lavoro numerato; in esso vengono registrati i codici dei filtri utilizzati nel campionamento, i volumi d'aria aspirati con i corrispondenti flussi e le posizioni operative.
- 3) Determinazione delle polveri totali e della frazione respirabile. Il tecnico di laboratorio procede alla determinazione delle polveri con i metodi sopra citati; i valori ottenuti vengono registrati in corrispondenza dei codici dei filtri pesati e riportati al valore di Nm^3 .
- 4) Mineralizzazione dei filtri. Questo processo viene eseguito mediante un mineralizzatore dell'ultima generazione, ottenendo per ogni membrana il corrispondente campione in una soluzione pronto da analizzare. La mineralizzazione viene con un programma di 40' diviso in diversi steps, in cui la membrana viene attaccata con 10 ml di HNO_3 al 70% prima e 10 ml di H_2O al 30% dopo, alla temperatura di 121°C. Tutti i campioni vengono successivamente diluiti a 100 ml con H_2O distillata.
- 5) Analisi di campioni. I campioni ottenuti vengono utilizzati per la determinazione dei metalli pesanti. I risultati vengono poi riportati in appositi moduli e comunicati alla Ditta Ausilio S.r.l. responsabile della sicurezza nel cantiere, e alla sede della Chemicontrol S.r.l. di Porto San Giorgio per la stesura della certificazione.

Indice degli Autori

A

M. E. Abdelsalam	60
O. Abollino	65
M. Aceto	65
G. Adami	84, 93
K. Afandi	68
G. Aicardi	130
G. Alberti	20
R. Alfonsetti	15
L. Amendola	123
M. Amici	36, 133
A. Andracchio	34
S. Angelino	107
G. Arditò	110
R. Aruga	45
I. Ascone	122
G. Ausenda	18

B

G. Badino	110
C. Baggiani	39
E. Baldini	20
M. A. Baldo	60
B. Ballarin	54
P. Banfi	56
M. Baraldini	130, 132
C. Barbante	31
P. Barbieri	84, 93
V. Bartocci	115, 117
F. Bazzoli	132
S. Becagli	104
M. Benedetti	96
P. Benetti	129
R. A. Bernardo	63
M. Berrettoni	122
U. Biader Ceipidor	120
A. Bianco Prevot	26
R. Biesuz	20
G. G. Bombi	50, 58
F. Bon	84
E. Bottari	112
C. Bragato	60
E. Bresciani	85
S. Bruni	64
C. Brunori	23
M. C. Bruzzoniti	65
F. Burrigato	114

C

N. Calace	32
K. Cammann	16

C. Campa	70
L. Campanella	69, 92
G. Capodaglio	31
M. Capolei	32
A. Cappiello	121
M. Careri	37, 81, 94, 121
F. Cariati	64
G. Carlucci	67
C. Carrer	43
F. Casadio	64
I. G. Casella	53, 89
A. Casoli	87
E. Castellano	103
T. R. I. Cataldi	70, 125
F. Catucci	21
A. Cavazzini	99
T. Cecchi	120
V. Celestini	103
P. Cescon	30, 31, 96
I. Chianella	42
R. Ciriello	48, 74
M. P. Colombini	85
C. Contado	79, 100
P. Conti	122
F. Corami	30
F. Corigliano	29
G. Cozzi	31
C. Creminini	23
R. Curini	114

D

G. D'ascenzo	114
V. Dal Santo	18
S. Daniele	60
P. G. Daniele	86
G. E. De Benedetto	40, 125
M. De Crescenzi	13
E. De Giglio	47
S. De Gregori	129
S. De Luca	92
A. De Robertis	72
C. De Stefano	72
S. Degetto	24
G. Denuauld	60
D. Desideri	24
E. Desimoni	56, 90
D. Di Cintio	73
V. Di Marco	58
V. Di Noto	25
S. Di Pasquale	29
P. Di Vito	70
F. Dondi	79, 99, 100
C. Dossi	18, 127

F

M. C. Facchini	34
G. Famigliani	121
G. Favero	92
A. Felinger	99
S. Ferraro	115, 120
M. R. Festa	112
S. Fossi	132
C. Foti	72
R. Frache	71
G. C. Franchini	76, 78
A. Fusi	18, 127
S. Fuzzi	34

G

E. Gallucci	134
A. Gambaro	30, 96
D. Gastaldi	110
M. C. Gennaro	107
A. Gentili	114
M. C. Giacomelli	102
A. Gianguzza	72
M. Giannetto	61
V. Gianotti	107
M. Giorgetti	122
R. Giovannetti	115, 117
C. Giovannoli	39
G. Giraudi	39
G. Grassi	39
C. Grazioli	87
A. Gualandi	102
M. Guardigli	130
M. R. Guascito	89
F. Guerra	24
A. Guerrieri	48, 74
M. Guidotti	127

H

M. Hansen	51
S. Hernandez	82
M. Hoyos	100

I

C. Ianni	71
----------------	----

J

R. S. Jurado	101
--------------------	-----

K

M. Krakler	31
------------------	----

L

L. Landi	109
O. Largiuni	104, 105
L. Lattanzi	119
R. Lelli	68, 108
A. Lepora	110
C. Locatelli	73, 88
P. Lombardi	94, 121
I. Losito	83
M. Lotierzo	46, 130
M. Lucchese	32

M

C. Maccà	58
E. Magi	71
M. Maione	119
M. Malavolta	117
C. Malitesta	83
A. C. Manetta	68, 108
F. Mangani	119
A. Mangia	14, 37, 81
M. Mantarro	112
R. Marassi	122
A. Marchetti	76, 78
A. Marcomini	43
E. Marconi	63
G. Marrazza	42
M. Martin	100
P. Marziali	134
M. Mascini	42, 80, 82
D. L. Massart	93
S. Materazzi	114
V. Maurino	27
L. Mavilia	29
P. Mazzeo	67
G. A. Mazzocchin	59, 60
M. Mecozzi	25, 36, 133
M. A. Meli	24
D. Melucci	100, 101
D. Mencarelli	123
E. Mentasti	65
Z. Mester	23
J. A. Mielczarski	40
G. Migliorati	68, 108
M. Miletic	84
M. Miller	51
C. Minero	27
I. Mingozzi	100

M. Mirasoli	46
F. Modugno.....	85
R. Morabito.....	23
I. Moret	30, 96
L. M. Moretto.....	59
G. Mori	14, 61, 81
D. Moscone.....	63
C. Mucchino.....	14, 94, 121
M. Musci.....	37, 81
M. Musiani.....	130

N

A. Notti	61
----------------	----

O

M. Orsi	110
G. Ostacoli	86, 110

P

G. Palla	87
G. Palleschi.....	63
F. Palmisano.....	21, 40
S. Pappalardo.....	61
M. F. Parisi.....	61
P. Pasini	46, 130, 132
P. Passamonti.....	117, 120
E. Pelizzetti.....	27
G. E. Pellegrini.....	112
M. Pesavento.....	20
B. M. Petronio.....	32
R. Piazza	30, 96
F. Piazza.....	68, 108, 109, 132
G. Piccardi	103, 104, 105
E. Pietrantonio	36, 133
C. Pojana.....	43
D. Poli	37
M. Positano.....	69
A. Pozzi.....	127
E. Pramauro	26
S. Predonzani.....	93
E. Prenesti	86
P. Primerano.....	29
A. Profumo	20
R. Psaro.....	18
F. Pucciarelli.....	120

Q

A. M. Quaranta	115
----------------------	-----

R

S. Recchia.....	18, 127
E. Reisenhofer	84, 93
M. Remelli.....	99
P. Reschiglian.....	51, 73, 101
A. Roda.....	46, 68, 108, 109, 130, 132
E. Roda	132
S. Rosa.....	53
C. Roselli.....	24
I. Rosso.....	39
M. Rugo.....	18
C. Russo	46, 130

S

L. Sabbatini	40, 47, 83
A. Salernitano.....	74
S. Sammartano.....	72
M. G. Sannazzaro.....	89
C. Sarzanini	65
A. Sbrilli	123
E. Scarano.....	112
G. Scarponi.....	30, 31
R. Seeber	54
P. Serena.....	50
F. Silvano	85
P. Simoni	68, 108
L. Soldà	58
P. Sternini	22
S. Susmel.....	80

T

M. Taddia	22
A. Tapparo.....	50
L. Tassi	76, 78
C. Testa.....	24
M. Tomassetti.....	69, 92
D. Tonelli	34, 54
G. Torsi.....	73, 88, 101
R. Traversi.....	102

U

R. Udisti	102, 103, 104, 105
P. Ugo.....	59
A. Ulrici.....	76, 78

V

G. Vaccari.....	76, 78
P. Valenti.....	46
A. Vanni	39

S. Vermigli.....	103
M. Vidali.....	25

Z

P. G. Zambonin.....	40, 47, 83
C. G. Zambonin.....	21, 53
L. Zambonin.....	109, 132
S. Zamponi.....	122
C. Zanardi.....	54
M. Zancato.....	58
S. Zappoli.....	34
A. Zattoni.....	51, 101
V. Zelano.....	110
L. Zoccolillo.....	123

Centro Audiovisivi e Stampa
Università degli Studi di Camerino
giugno 1998